Boli respiratorii virale în creșterea păsărilor

Kateri Bertrán Dois
Miquel Nofrarías Espadamala
Mar Biarnés Suñé Natàlia Majó
Masferrer

SERVET

Bronșita infecțioasă, gripa aviară și boala

Boli respiratorii virale în creșterea păsărilor

Deținut de:
© 2020 Grupo Asís Biomedia SL
Plaza Antonio Beltrán Martínez, nr. 1, etajul 8 - litera I (Centrul de afaceri El Trovador)
50002 Zaragoza - Spania

Prima impresie: decembrie 2020

Ilustrator:
Iacob Gragera Artal

ISBN: 978-84-18020-83-4
Licență: Z 1511-2020

Design, pre-tipărire și tipărire:
Servet Editorial - Grupo Asís Biomedia SL www.grupoasis.com info@grupoasis.com

Șervet este o editură a Grupo Asís

Toate drepturile rezervate.

Orice formă de reproducere, distribuire, comunicare publică sau transformare a acestei opere poate fi realizată numai cu autorizația proprietarilor săi, cu excepția cazurilor în care legea prevede altfel. Contactați CEDRO (Centrul Spaniol pentru Drepturi de Reproducere) dacă trebuie să fotocopiați sau să scanați orice parte a acestei opere (www.conlicencia.com ; +34 91 702 19 70 / +34 93 272 04 47).

Avertizare:

Știința veterinară este supusă unor schimbări evolutive constante, la fel ca și farmacologia și alte științe. Prin urmare, este responsabilitatea inevitabilă a medicului veterinar clinician, pe baza experienței sale profesionale, să determine și să verifice dozajul, metoda, perioada de administrare și contraindicațiile tratamentelor aplicate fiecărui pacient.
Nici editorul, nici autorul nu își asumă nicio responsabilitate pentru daunele sau pierderile care pot fi cauzate persoanelor, animalelor sau bunurilor ca urmare a utilizării sau aplicării corecte sau incorecte a datelor care apar în această lucrare.

MULȚUMIRI

Această carte este dedicată medicilor veterinari și oamenilor de știință veterinari ale căror cariere s-au concentrat pe studierea, diagnosticarea, prevenirea și controlul bolilor respiratorii virale la păsări. Datorită lor, continuăm să facem progrese în îmbunătățirea sănătății și bunăstării animalelor și în sprijinirea industriei avicole, principala sursă mondială de proteine animale.

AUTORI

Kateri Bertrán Dols

Este licențiată și are un doctorat în Medicină Veterinară de la Universitatea Autonomă din Barcelona (UAB). În prezent, este cercetătoare la Centrul de Cercetare în Sănătatea Animalelor (IRTA-CReSA).

Cercetările sale se concentrează pe bolile infecțioase virale ale păsărilor, în special gripa aviară zoonotică. A lucrat la transmiterea gripei aviare la interfața animal-om, vaccinuri, patobiologie și biosecuritate la diverse centre de renume internațional, inclusiv laboratorul de referință al Organizației Mondiale pentru Sănătatea Animalelor (OIE) pentru gripa aviară și boala Newcastle (Padova, Italia), Departamentul Agriculturii al Statelor Unite (USDA, Atena, GA) și Școala Națională Veterinară din Toulouse (Toulouse, Franța). A publicat peste 30 de articole științifice în reviste indexate și și-a prezentat lucrările la numeroase conferințe internaționale.

Miquel Nofrarías Espadamala

Absolvent și doctor în Medicină Veterinară al Universității Autonome din Barcelona (UAB), diplomă de la Colegiul European de Management al Sănătății Porcine (ECPHM) și cercetător la Centrul de Cercetare în Sănătatea Animalelor (IRTA-CReSA).

Cercetările sale s-au concentrat pe sănătatea animalelor, în principal la păsările de curte și porcine. A lucrat la numeroase studii care au implicat aditivi și produse veterinare, modele de infecții animale, studii anatomopatologice , cercetări privind sănătatea intestinală și siguranța alimentară. A participat la 13 proiecte de cercetare, peste 100 de contracte de cercetare cu companii naționale și internaționale, a publicat peste 60 de articole în reviste științifice și a contribuit la numeroase conferințe și seminarii.

Mar Biarnés Suñé

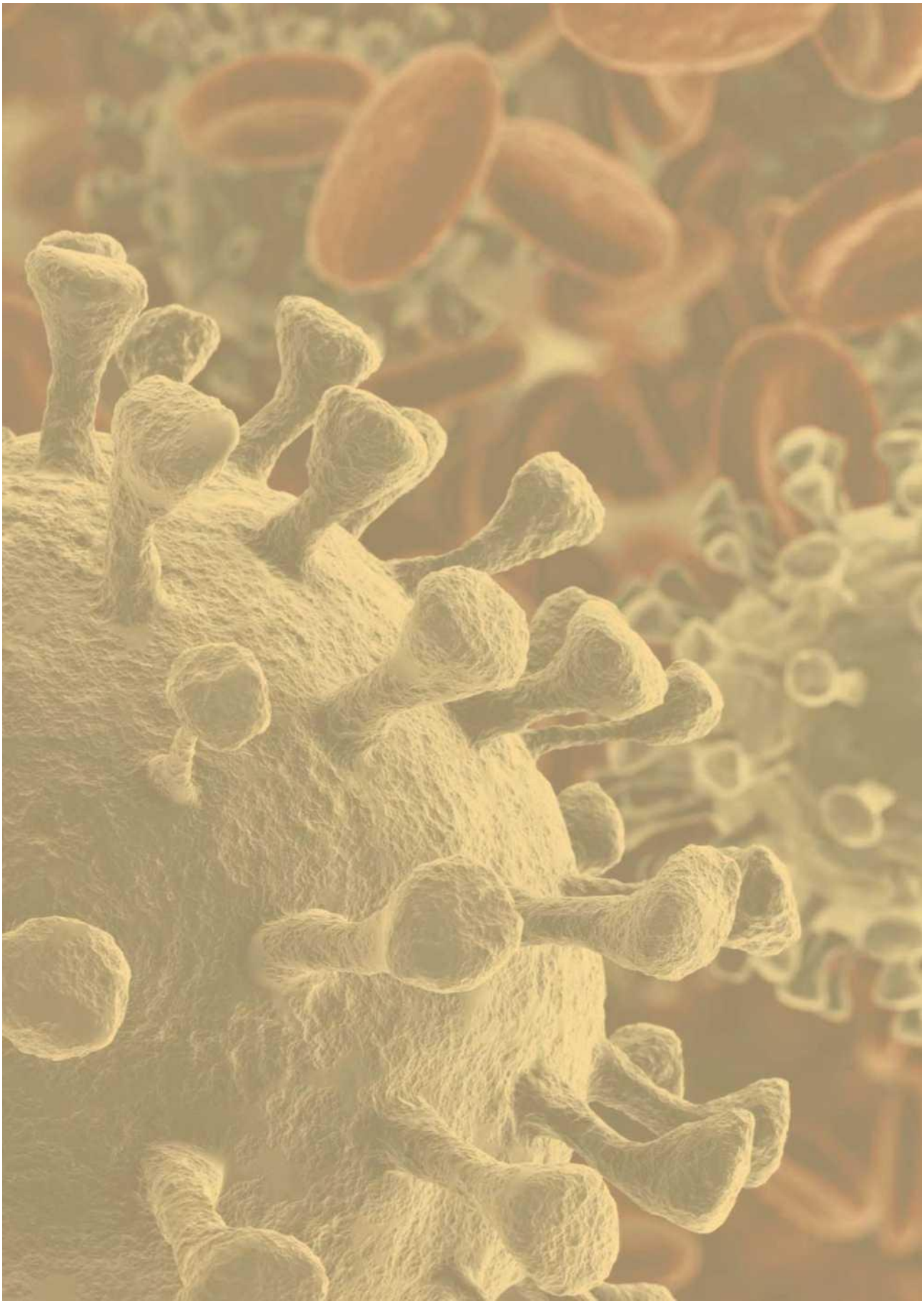
Este licențiată în Medicină Veterinară de la Universitatea Autonomă din Barcelona (UAB). În prezent, este directoarea tehnică a Centrului de Sănătate Avicolă din Catalonia și Aragon (CESAC), care oferă servicii de diagnostic pentru bolile aviare la nivel național și internațional, sprijin pentru producția avicolă și instruire tehnică.

Principalele sale linii de cercetare se concentrează pe patologia aviară, în principal diagnosticul de laborator. A publicat mai multe articole științifice și studii de caz clinic și a participat la numeroase întâlniri, cursuri și conferințe naționale și internaționale. Este membru al Comitetului Executiv al Asociației Spaniole de Știință Avicolă (WPSA-AECA).

Natalia Majó Masferrer

Este doctor în Medicină Veterinară de la Universitatea Autonomă din Barcelona (UAB) și are diplome europene în patologie veterinară de la Colegiul European de Patologi Veterinari (ECVP) și în științe avicole de la Colegiul European de Științe Veterinare Avicole (ECVPS). În prezent, este profesor titular la Facultatea de Medicină Veterinară a UAB și directoare a Centrului de Cercetare a Sănătății Animale (IRTA-CReSA).

Principalele sale linii de activitate, atât în predare, cât și în cercetare, se concentrează pe patologia animală și, mai specific, pe patologia aviară. Este responsabilă de diagnosticul aviar la Serviciul de Diagnostic Patologic Veterinar al Facultății de Medicină Veterinară a Universității Autonome din Barcelona (UAB). Cercetările sale se concentrează pe bolile virale aviare, în special gripa aviară, și a supervizat 12 teze de doctorat în acest domeniu. A publicat peste 80 de articole științifice și a participat la numeroase întâlniri și conferințe naționale și internaționale. A predat mai multe cursuri de formare în patologia aviară pentru companii. A fost membră a *Consiliului ECVP* și a Comitetului Executiv al Asociației Spaniole de Știință Avicolă (WPSA-AECA). În prezent, este, de asemenea, redactor asociat al revistei *Avian Pathology*.



PROLOG

Deși literatura științifică despre bolile respiratorii este abundentă, publicațiile care combină informații utile și cuprinzătoare pentru diverși profesioniști din domeniul sănătății păsărilor într-un mod practic și didactic sunt rare. Eforturile sunt de obicei concentrate pe domenii specifice de specializare, neglijând aspecte importante. Această carte, însă, abordează și articulează în mod strălucit cele mai importante boli respiratorii virale din punct de vedere al etiologiei, epidemiologiei, patologiei, semnelor clinice, diagnosticului și controlului acestora, inclusiv cele mai recente și relevante informații disponibile pe fiecare subiect.

Este deosebit de valoros faptul că această carte a fost scrisă de autori care au lucrat direct și pe larg cu agenții infecțioși descriși și în domeniile diagnosticului, predării și cercetării. Toți sunt considerați experți de renume în domeniul virologiei și patologiei aviare.

Cititorul nu numai că se poate baza pe susținerea științifică a numeroaselor referințe bibliografice care susțin fiecare afirmație din această carte, dar va găsi și materiale grafice și fotografice de înaltă calitate. Mai mult, această carte este prezentată în spaniolă, eliminând necesitatea consultului de texte în alte limbi pentru informații actuale și relevante.

Printre bolile respiratorii virale, această carte include bronșita infecțioasă, gripa aviară și boala Newcastle - fără îndoială cele mai impactante la nivel mondial. Pentru fiecare, cartea descrie etiologia, epidemiologia, semnele clinice și leziunile, metodele de diagnostic și strategiile de control. Fiecare capitol este însoțit de materiale grafice care facilitează înțelegerea rapidă a conceptelor, de la tabele informative și fotografii de înaltă rezoluție ale leziunilor, până la hărți excelente care arată distribuția epidemiologică a bolilor și a agenților infecțioși la nivel global.

Capitolul despre bronșita infecțioasă (BI) include o hartă care prezintă distribuția geografică recentă a unora dintre cele mai importante tulpini ale virusului BI (BIV) la nivel internațional, ceea ce va fi cu siguranță o informație interesantă, practică și utilă pentru multe țări. Capitolul prezintă în contrast virulența, tropismul și patogeneza unor tulpini relevante de BIV. Sunt prezentate fotografii excelente ale leziunilor macroscopice și microscopice. Secțiunea de diagnostic stabilește un echilibru între pragmatism și știință, descriind tipurile de probe care ar trebui obținute și posibilele strategii de diagnostic, precum și aplicarea serologiei, permițând cititorului să înțeleagă cu ușurință aspectele clinice și de diagnostic. În cele din urmă , este prezentată o descriere a vaccinurilor disponibile, împreună cu avantajele și dezavantajele acestora. Capitolul se încheie cu câteva comentarii menite să completeze strategiile de prevenire și control.

Capitolul despre gripa aviară include o descriere foarte bună a virusurilor care cauzează această boală și a factorilor lor determinanți de virulență , oferind suficiente detalii fără a copleși cititorul cu o cantitate excesivă de informații inutile într-o carte de acest gen. Descrierea din acest capitol va fi foarte utilă pentru ca cititorul să înțeleagă cele mai importante elemente ale virusului

gripei aviare și ale subtipurilor sale și să se mențină la curent cu semnele și leziunile clinice, epidemiologia și cele mai frecvent utilizate strategii de diagnostic. Este inclus un rezumat excelent al semnelor și leziunilor clinice, cu fotografii ale modificărilor macroscopice și microscopice și o comparație utilă a sensibilității, specificității, costului relativ, duratei și aplicării fiecăruia dintre testele utilizate pentru diagnostic și supraveghere. Este important de menționat că a fost inclusă o secțiune care abordează strategiile de control al gripei aviare, luând în considerare posibila utilizare a vaccinurilor și a vaccinării, beneficiile , avantajele și dezavantajele acestora.

Capitolul despre boala Newcastle (NB) este esențial datorită importanței sale economice și sociale semnificative, precum și a distribuției largi a formelor sale nepatogene, cu virulență scăzută (NBLO) și virulente (NBVV). Capitolul începe cu o descriere actualizată a agentului cauzal, importanța nivelului său de patogenitate și, în mod crucial, distribuția geografică a principalelor genotipuri recunoscute până în prezent și relevanța lor corespunzătoare. Una dintre cele mai detaliate secțiuni ale acestui capitol discută aspectele epidemiologice ale NB, inclusiv modurile de transmitere, potențialul zoonotic și rolul păsărilor de curte necomerciale în răspândirea bolii. Este inclusă și o descriere a semnelor clinice și a leziunilor, cruciale pentru identificarea focarelor de boli. În cele din urmă, o secțiune detaliată de diagnostic acoperă, printre altele, testele de -patogenitate *in vivo* necesare pentru a determina virulența virusurilor implicate.
Acest capitol se încheie cu o descriere a schemelor de prevenire și control, atât de esențiale pentru munca specialiștilor în sănătatea păsărilor și a diagnosticienilor ; și cu o secțiune care descrie principalele caracteristici, aplicații, avantaje și dezavantaje ale vaccinurilor vii, inactivate și recombinante (vectorizate). Autorii au folosit numeroase referințe bibliografice pentru a susține toate conceptele din acest capitol și din altele.

Cartea se încheie cu un capitol dedicat diagnosticului diferențial al proceselor respiratorii în general și un capitol final care prezintă cazuri clinice ce permit aplicarea pragmatică a conceptelor dobândite în primele cinci capitole. Aceste cazuri clinice oferă cititorului oportunitatea de a integra concepte din analiza de teren, observarea semnelor și leziunilor clinice, impactul asupra productivității, virologie aplicată , epidemiologie, serologie și detecție moleculară în laborator. În plus, ele permit luarea în considerare a diagnosticelor diferențiale care includ în mod necesar și alți agenți patogeni nedescriși în această carte. Autorii au avut grijă să se concentreze asupra celor trei boli respiratorii virale principale, fără a neglija importanța altor agenți infecțioși. Autorii nu s-au limitat la a ghida cititorul către un diagnostic etiologic; mai degrabă, spre deosebire de alte texte, au inclus măsuri corective propuse pentru exemplele de cazuri clinice, încurajând cititorul să își integreze cu adevărat cunoștințele de la suspiciunea inițială a unui focar de boală până la rezolvarea finală a acestuia și prevenirea viitoarelor focare.

Se poate observa că această carte integrează cu adevărat toate elementele necesare pentru a înțelege o boală, etiologia, epidemiologia, simptomatologia și leziunile acesteia , elementele necesare pentru diagnostic și posibilele strategii de prevenire și control, pe lângă o abordare clinică de teren și de laborator care culminează fiecare subiect, toate cu o prezentare vizuală

excelentă și, mai presus de toate, în spaniolă.

Guillermo Zavala
Avian Health International, LLC; Profesor asociat în cadrul Departamentului de Medicină Populațională, Facultatea de Medicină Veterinară, Universitatea din Georgia, Statele Unite

PREFAŢĂ

Multe dintre cele mai frecvente și grave boli infecțioase la păsările de curte sunt bolile respiratorii. Mai exact, bolile respiratorii virale sunt probleme complexe din punct de vedere clinic și semnificative din punct de vedere economic. Acestea pot provoca semne clinice severe și rate ridicate ale mortalității, dar reduc și productivitatea, performanța și profiturile fără a se prezenta neapărat ca boli clinice evidente. În plus, se știe că infecțiile respiratorii virale promovează infecțiile bacteriene secundare, crescând astfel efectele negative ale prezenței lor în fermă.

Această carte se concentrează pe trei dintre cele mai frecvente și devastatoare boli respiratorii virale din industria avicolă: bronșita infecțioasă aviară, gripa aviară și boala Newcastle .

Bronșita infecțioasă aviară este o boală respiratorie acută și extrem de contagioasă , care poate afecta și rinichii și tractul reproducător. Episoadele de mutație genetică și recombinare facilitează apariția unei game largi de genotipuri și serotipuri în câmp, împiedicând succesul programelor de vaccinare. **Gripa aviară** reprezintă o amenințare globală nu numai pentru industria avicolă, ci și pentru sănătatea publică și conservarea faunei sălbatice. În timp ce virusurile slab patogene provoacă de obicei simptome respiratorii ușoare și nespecifice, virusurile înalt patogene pot provoca o mortalitate de 100% în câteva zile, datorită replicării lor sistemice. Datorită ratei lor ridicate de mutație și a capacității de a recombina segmente genetice, virusurile gripei aviare prezintă o variabilitate genetică semnificativă, complicând controlul lor prin vaccinare. Boala Newcastle s-a răspândit rapid în întreaga lume și poate provoca rate ridicate ale mortalității în fermele afectate, deoarece virusul poate afecta nu numai tractul respirator, ci și tractul gastrointestinal și sistemul nervos. Măsurile de biosecuritate și vaccinarea sunt esențiale pentru controlul acesteia, dar dezvoltarea unui program eficient de vaccinare depinde de mulți factori, inclusiv frecvența și severitatea preconizate ale tulpinilor circulante.

Deși aceste trei boli pot părea adesea similare din punct de vedere clinic , deoarece sunt dificil de distins exclusiv pe baza semnelor și leziunilor clinice, este esențial să le diagnosticăm cu precizie și să considerăm fiecare ca o boală separată și unică. Prin urmare, această carte reflectă caracteristicile unice ale fiecărei boli în ceea ce privește agentul etiologic, epidemiologia, semnele și leziunile clinice, diagnosticul și opțiunile de prevenire și control. Include nu doar informații de bază, validate pe larg de-a lungul deceniilor, ci și referințe la cele mai recent publicate studii. În plus, un capitol este dedicat

exclusiv diagnosticului diferențial al proceselor respiratorii, prezentând vizual cele mai frecvente probleme respiratorii detectate la păsările de diferite vârste și testele de laborator necesare pentru excluderea sau diagnosticarea acestora. În cele din urmă, cartea se încheie cu două cazuri clinice reale, oferind îndrumări despre cum să gestionezi o problemă respiratorie la fermă și ilustrând utilitatea și caracterul practic al informațiilor prezentate. Întregul conținut al cărții este prezentat într-o manieră concisă și directă, iar informațiile esențiale sunt evidențiate vizual prin utilizarea de diagrame, imagini, grafice și tabele, facilitând citirea și asimilarea conținutului.

Această carte este concepută ca referință pentru medicii veterinari de teren, tehnicienii de diagnostic, patologi și studenți. Informațiile conținute aici vor ajuta la navigarea în peisajul complex al bolilor respiratorii virale la păsările de curte, ajutând la formularea diagnosticelor diferențiale bazate pe istoricul clinic și leziuni, la colectarea de probe pentru teste de laborator adecvate și furnizarea de rezultate precise, precum și la conceperea de protocoale de prevenire și control adaptate fiecărei ferme.

Autorii

CUPRINS

1. BRONȘITA INFEȚIOSĂ AVIARĂ 1
Introducere 1
Etiologie 1
Epidemiologie 2
Semne clinice și leziuni 4
Semne clinice 4
Leziuni macroscopice 6
Leziuni microscopice 7
Diagnostic 8
Dosar medical 8
Necropsia și recoltarea probelor 8
Izolarea virală 9
Detectarea prin metode moleculare 9
Genotiparea prin secvențiere 11
Serologie: detectarea anticorpilor împotriva IBV 11
Prevenire și control 13
Vaccinuri 13
Alte instrumente de control și prevenire 16
Bibliografía 17

2 GRIPE AVIAR 21
Introducere ..... 21 de ani
Etiologie 22
Epidemiologie 24
LPAIV: Semne clinice și leziuni 26
Semne clinice 26
Leziuni macroscopice 27
Leziuni microscopice 27

HPAIV: Semne clinice și leziuni ..... 28 de ani
Semne clinice ..... 28 de ani
Leziuni macroscopice 29
Leziuni microscopice 30
Diagnostic 30
Dosar medical 30
Necropsia și recoltarea probelor 32
Izolarea virală ..... 33 de ani
Detectarea prin metode moleculare 34
Serologie: detectarea anticorpilor împotriva AIV 34
Caracterizarea tulpinilor de AIV izolate ..... 35 de ani
Prevenire și control ..... 35 de ani
Vaccinare 36
Bibliografía 38

3 BOALA NEWCASTLE 43
Introducere 43
Etiologie 44
Epidemiologie 46
Semne clinice ..... 48 de ani
Leziuni 49
Leziuni macroscopice 49
Leziuni microscopice 51
Diagnostic 51
Detectarea și identificarea virusurilor 52
Teste de patogenitate 53
Serologie 53
Prevenire și control 54
Profilaxia și controlul sănătății 54

Vaccinare ..... 55 de ani
Literatură 58

4 DIAGNOSTIC DIFERENȚIAL AL PROCESE RESPIRATORII 63

Păsări tinere (<3 săptămâni) 64

Procese care implică de obicei tractul respirator superior (rinită, sinuzită, traheită) 64

Procese care implică de obicei tractul respirator inferior (pneumonie, aerosaculită) sau infecții sistemice 64

Păsări >3 săptămâni 65

Procese care implică de obicei tractul respirator superior (rinită, sinuzită, traheită) 65

Procese care implică de obicei tractul respirator inferior (pneumonie, aerosaculită) sau infecții sistemice 65

4 STUDII DE CAZ 67

1 67

Prezentare fermă 67

Evoluția cazului: semne și leziuni 68

Diagnostic prezumtiv și recoltarea probelor 68

Rezultate și interpretare 71

Măsuri de control al sănătății adoptate în ferma afectată 73

Cauze posibile și acțiuni corective 74

2 75

Prezentare fermă 75

Evoluția cazului: semne și leziuni 75

Diagnostic prezumtiv și recoltarea probelor 77

Rezultate și interpretare 78

Cauze posibile și acțiuni corective 81

1 Bronquitis infecciosa aviar

INTRODUCCIÓN

La bronquitis infecciosa aviar *(infectious bronchitis,* IB, siglas en inglés) es una enfermedad respiratoria aguda y altamente contagiosa de importancia económica y distribución mundial. La IB afecta a pollos y otras aves de corral y está causada por el coronavirus de la bronquitis infecciosa aviar *(infectious bronchitis virus,* IBV).[1] Además de las infecciones respiratorias, el IBV puede afectar al riñón y al tracto reproductivo, causando disfunción renal y disminución de la puesta, respectivamente. Las altas tasas de replicación del virus dan como resultado mutaciones genéticas y episodios de recombinación del genoma, que pueden conducir a la aparición de nuevos genotipos y, según su similitud genética, potencialmente nuevos serotipos. La aparición de nuevos serotipos dificulta en gran medida los programas vacunales, ya que generalmente no existe inmunidad cruzada completa entre ellos. La IB no es una zoonosis. [1]

ETIOLOGÍA

El IBV pertenece a la familia *Coronaviridae*. Es un virus de ARN con envoltura, de sentido positivo y cadena sencilla.[2] Las partículas del virus tienen proyecciones de superficie en forma de espículas (fig. 1), dándole al virus una apariencia de corona, de ahí su nombre. [1]

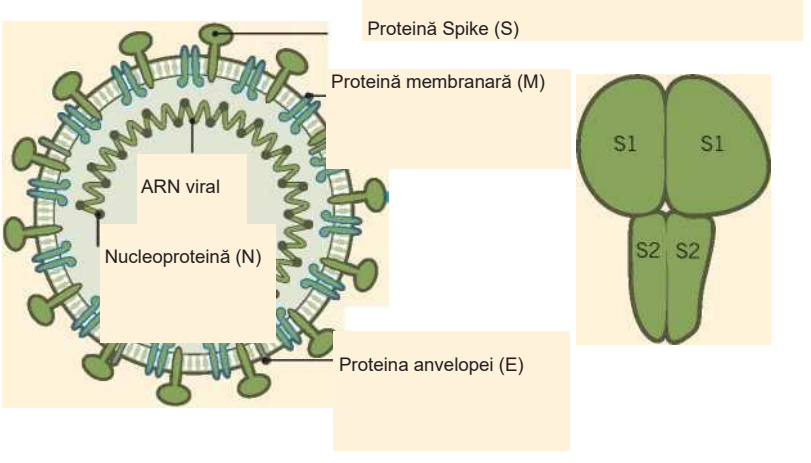


Figura 1.
Structura virusului bronșitei infecțioase aviare (IBV).

Genomul IBV codifică proteine structurale și nestructurale. Proteinele structurale includ glicoproteina spike (S), proteina anvelopei (E), matricea și nucleocapsida. Aceste proteine joacă roluri diferite în infecția celulelor gazdă, replicarea virală și dezvoltarea bolilor . Porțiunea S1 a glicoproteinei S este crucială pentru legarea virală și intrarea în celulă prin intermediul receptorilor acidului sialic. Prin urmare, S1 este un factor determinant al diversității virale și al protecției imunologice³ și este utilizată pentru caracterizarea genotipică a tulpinilor IBV.[1]

EPIDEMIOLOGIE

În America de Sud, trei linii principale circulă pe scară largă: GI-1, GI-11 și GI-16.21 Linia GI-1 (tipul Massachusetts) este prezentă în Argentina, Brazilia, Chile și Columbia. Linia GI-11, exclusivă Americii de Sud și apărută în anii 1950, este predominantă în Brazilia și Uruguay. Linia GI-16 (cunoscută popular sub numele de tulpina Q1) circulă în majoritatea

IBV are o distribuție la nivel mondial. Zeci de serotipuri și genotipuri au fost detectate pe fiecare continent, cu excepția Antarcticii.⁴ La fel ca majoritatea virusurilor ARN, IBV prezintă rate ridicate de mutație și recombinare, ceea ce duce la generarea de genotipuri diferite, tropism tisular distinct și variabilitate a infecțiozității.^{3,5,6} Această variație se datorează : (i) mutațiilor punctuale nucleotidice datorate ratei de eroare a polimerazei; (ii) recombinării genomice între tulpinile vaccinale și cele de teren; și/sau (iii) presiunii de selecție virală rezultată din vaccinare și prezența păsărilor parțial imune.¹⁷⁸ Serotipurile IBV pot diferi foarte mult (20-50%) în secvențele de aminoacizi ale proteinei S1, deși unele virusuri clar diferite în testele de neutralizare prezintă diferențe de doar 2-3% în secvențele de aminoacizi. ^{9,10}

Deoarece heterogenitatea nucleotidelor este mai frecventă în porțiunea S1 a genei *S* În 1U2 , analiza secvenței nucleotidice complete sau parțiale a genei *S1* este utilizată pentru a determina genotipurile IBV. [4 , 13] Au fost identificate peste 50 de tulpini diferite, care sunt clasificate filogenetic în 6 genotipuri care cuprind 32 de linii virale distincte (GI 1-27, GII-GVI). [14] Unele linii au o distribuție geografică largă, probabil asociată cu utilizarea vaccinurilor derivate din acestea, în timp ce altele sunt limitate la anumite regiuni geografice. [14-17] De exemplu, linia GI-1 include primul genotip IBV identificat istoric, genotipul Massachusetts, care este prezent la nivel mondial și este în prezent al treilea genotip ca rază de răspândire în Europa. [18] În Spania, IBV-QX (linia GI-19) a fost detectat pentru prima dată în 2011 și de atunci a câștigat teren față de genotipurile 4/91 și Italia/02, fiind în prezent genotipul cel mai răspândit, așa cum este cazul și în alte țări europene. [14 , 18 , 19] În perioada 2017-2018, genotipurile cel mai frecvent detectate în Spania au fost 793/B, cunoscut și sub numele de 4/91 (atât tulpinile vaccinale, cât și cele de teren) și tipul QX Xindadi. [1820]

teritoriilor sud-americane (Argentina, Chile, Uruguay, Columbia și Peru) [21] (Fig. 2).

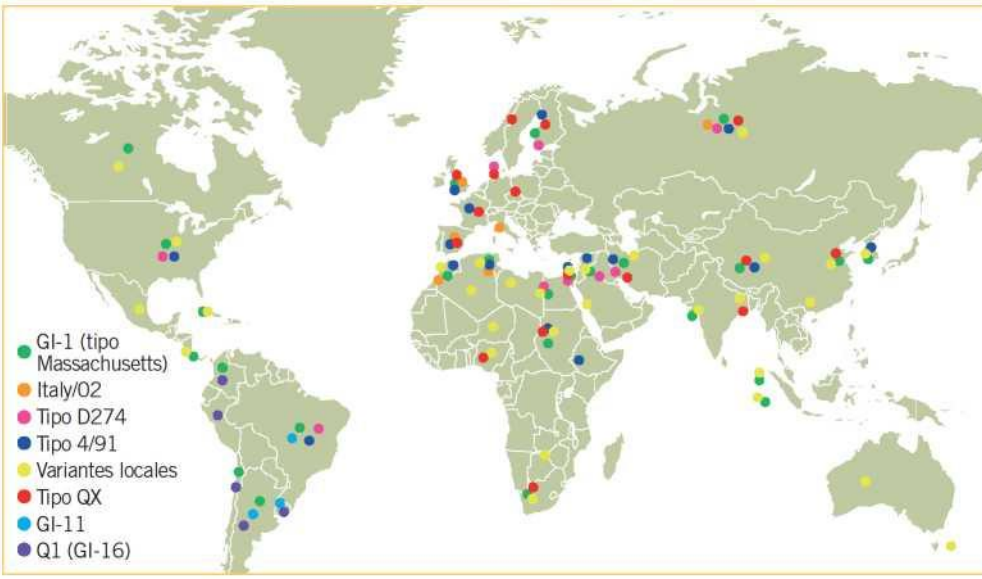
IB este în principal o boală a găinilor *(Gallus gallus)*. [1] Puii tineri sunt deosebit de sensibili și, odată cu vârsta, devin mai rezistenți la efectele nefropatogene, prezintă mai puține leziuni ale oviductului și au o mortalitate mai mică din cauza infecției. [1] IBV este foarte contagios și se răspândește rapid prin: [1,22]

inhalarea sau ingerarea particulelor virale prin contact direct între păsările infectate și cele sensibile;

contact indirect prin picături de aerosoli, fecale sau urină;

sau expunerea la fomite contaminate cu viruși, cum ar fi îmbrăcămintea, încălțămintea, uneltele etc.

virusului IBV la păsări este un aspect puțin studiat. Locurile candidate pentru persistență sunt amigdalele cecale și rinichiul.1



2. Distribuția la nivel mondial a genotipurilor de IBV.

SEMNE CLINICE ȘI LEZIUNI

Semne clinice

IBV infectează în principal sistemul respirator al puilor. Cu toate acestea , unele tulpini și izolate de teren pot afecta sistemele reproducător, renal și digestiv . Astfel, patogeneza bolii diferă în funcție de tulpină și de sistemul implicat. Morbiditatea este de obicei de 100 %, dar mortalitatea este variabilă (de la 0% la 80%) în funcție de virulența și patotipul

tulpinii infectante, vârsta la momentul infectării, statusul imunității materne sau active (vaccinare) [și] stresul cauzat de infecțiile secundare.

Cea mai mare mortalitate se observă în general în cazul infecțiilor cu tulpini nefropatogene la păsările tinere . [1] , [13] , [22] , [25-27]

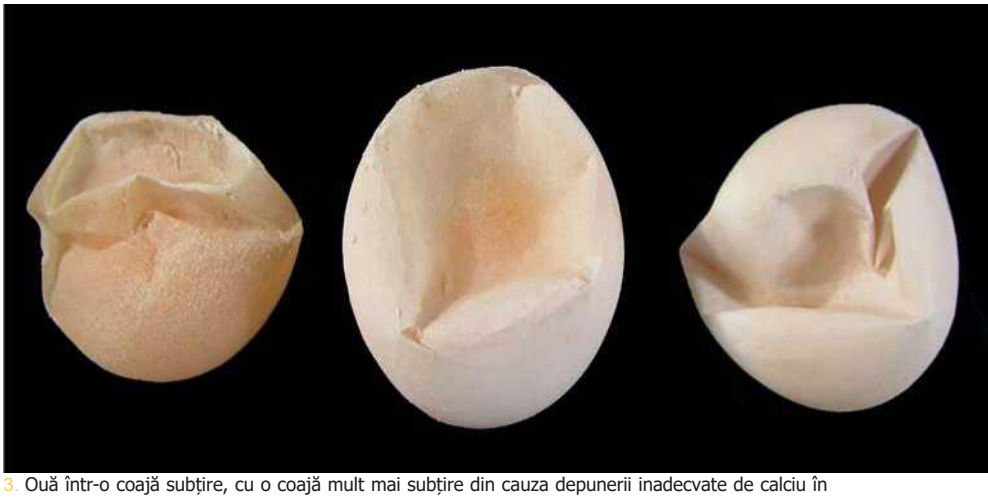
Infecțiile respiratorii intestinale (IBV), cum ar fi IBV-urile clasice de tip Massachusetts (linia GI-1), provoacă semne respiratorii nespecifice, cum ar fi gâfâitul, tusea, strănutul, ralurile traheale și secrețiile nazale.^{[124} Se pot observa ochi lăcrimați și ocazional sinusuri umflate. Puii par deprimați și se pot ghemui sub o sursă de căldură. Consumul de hrană și creșterea în greutate sunt semnificativ reduse. La puii cu vârsta peste 6 săptămâni, semnele sunt în general mai puțin clare, iar boala poate chiar trece neobservată . Severitatea semnelor respiratorii este influențată de calitatea aerului, adăpost, tipul de pasăre, tulpina implicată, programul de vaccinare și prezența coinfecțiunilor.^{[1}

Puii de carne infectați cu tulpini nefropatogene își revin adesea după faza respiratorie și prezintă ulterior semne de depresie, pene zbârlite, fecale umede, aport crescut de apă și mortalitate.^{[1} Anumiți factori precum stresul cauzat de frig, rasa puiului sau dietele bogate în proteine animale pot predispune la dezvoltarea acestor semne clinice.^{[1}

La efectivele de găini ouătoare infectate cu IBV, pe lângă semnele respiratorii, se observă o scădere a producției și a calității ouălor. Chiar și în cazurile evidente de cădere a ouălor și producție anormală de ouă, semnele respiratorii pot fi absente sau foarte ușoare. Severitatea căderii ouălor poate varia de la ușoară la foarte severă (până la 70%) și depinde de factori precum tulpina implicată și nivelul de imunitate împotriva tulpinii respective, momentul infecției în perioada de ouat și prezența coinfecțiilor, cum ar fi adenovirusul (care provoacă sindromul căderii ouălor) sau *Mycoplasma synoviae*. În cazul căderilor ușoare de ouă, un nivel normal de producție poate fi restabilit în decurs de 1 până la 2 săptămâni. Când puicuțele tinere sunt afectate, deteriorarea oviductului poate împiedica intrarea în producție a găinilor ouătoare și a reproducătoarelor (așa-numitele „găini ouătoare false"). [113] Infecțiile cu IBV pot provoca, de asemenea, scăderea calității ouălor din cauza pierderii pigmentului cojii, a calității afectate a cojii (deformată, subțire, moale, aspră sau absentă) (Fig. 3) și a calității albumenului (subțire sau apos) și a scăderii ratei de eclozare.1132228

Tulpinile IBV-QX (linia GI-19) au fost descrise pentru prima dată în China în anii 1990^{[8} și au fost inițial asociate cu proventriculita. ^[34,29] Cu toate acestea , după răspândirea în Asia, Europa, Orientul Mijlociu și Africa, acest virus a fost curând recunoscut ca o cauză a nefritei la păsările tinere și a „găinilor ouătoare false" la găinile ouătoare, la găinile de reproducție și la păsările de curte. ^[34,18,24,29] În special,

tulpinile QX infectează rinichii, tractul respirator și oviductul, provocând boală clinică severă în decurs de 48 de ore de la expunerea virală, cu semne respiratorii, nefropatogene și reproductive, așa cum sunt descrise.²⁴

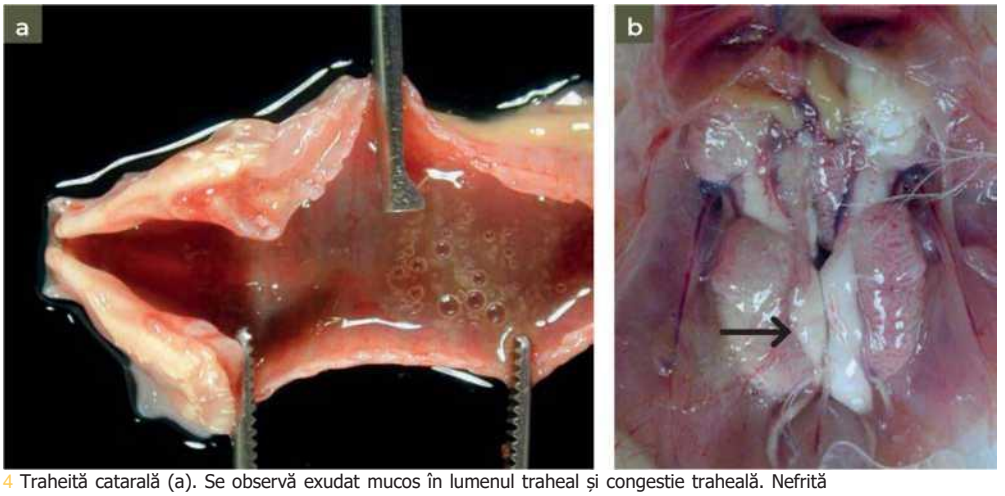


3. Ouă într-o coajă subțire, cu o coajă mult mai subțire din cauza depunerii inadecvate de calciu în coajă.

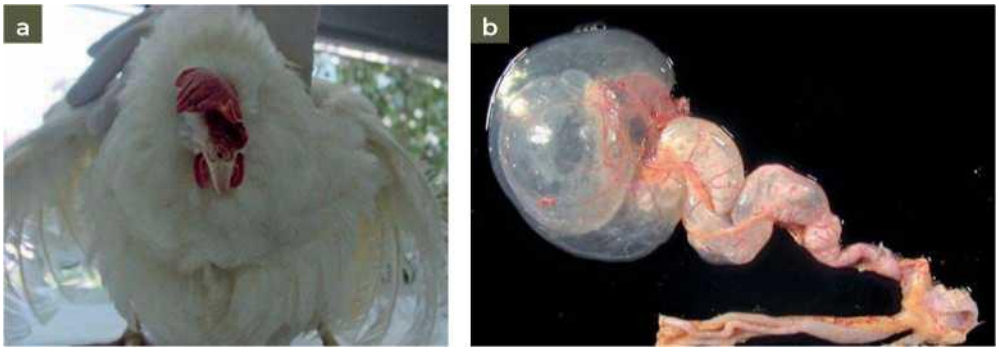
Leziuni macroscopice

Găinile infectate cu IBV prezintă exudat seros, cataral sau cazeos în trahee (Fig. 4a), pasaje nazale și sinusuri paranazale.^{11,22,127} Sacii aerieni sunt spumoși în timpul infecției acute, deși ulterior pot deveni tulburi și pot conține un exudat cazeos galben. Se pot observa zone de pneumonie în jurul bronhiilor mari. Infecțiile nefropatogene produc rinichi umflați și palizi, cu tubulii și ureterele adesea dilatate cu urați¹ (Fig. 4b).

La găinile infectate cu IBV în timpul ouatului, nu se observă de obicei leziuni macroscopice relevante, dar ocazional se poate găsi gălbenuș lichid în cavitatea celomică (abdominală). Cu toate acestea, acest lucru nu este exclusiv pentru IBV, deoarece se observă și în cazul altor boli care provoacă o scădere semnificativă a producției de ouă.¹ IBV provoacă, de asemenea, oviducte chistice la găinile infectate la o vârstă foarte fragedă, în timpul creșterii. Acest lucru duce la o reducere a producției maxime de ouă la atingerea maturității („ouă false") (Fig. 5a și 5b). Oviductele pot fi, de asemenea, reduse în lungime și greutate, iar ovarele pot regresa. Cu cât găina este expusă mai tânără la IBV, cu atât este mai probabil să fie o „ouă false" la maturitate.¹



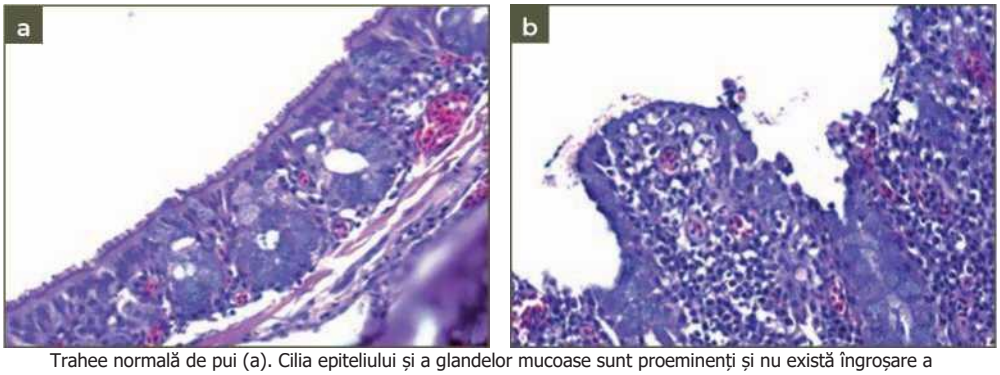
4 Traheită catarală (a). Se observă exudat mucos în lumenul traheal și congestie traheală. Nefrită (b). Mărirea rinichilor și acumularea de urați în rinichi și uretere (săgeată).



5. Strat fals (a). Oviduct chistic al unei găini în vârstă de aproximativ 28 de săptămâni (b). Se observă acumularea de lichid limpede în lumenul oviductului, formând chisturi în regiunea craniană a infundibulului.

Leziuni microscopice

Găinile cu IB prezintă edem al mucoasei traheale, pierderea ciliilor, rotunjirea și dezlipirea celulelor epiteliale, cu infiltrare ușoară a heterofilelor și limfocitelor în decurs de 18 ore de la infecție (Fig. 6a și 6b). Epiteliul se regenerează începând cu 48 de ore, cu hiperplazie epitelială însoțită de infiltrarea masivă a laminei propria de către celulele limfoide și formarea de centre germinative. Dacă sacul aerian este afectat, acesta prezintă edem, descuamarea celulelor epiteliale și un exudat fibrinos în primele 24 de ore. Ulterior , poate exista o creștere a heterofilelor cu noduli limfoizi, proliferarea fibroblastelor și regenerare prin celule epiteliale cuboidale .



Trahee normală de pui (a). Cilia epiteliului și a glandelor mucoase sunt proeminenți și nu există îngroșare a mucoasei din cauza inflamației. Traheită legată de infecția cu IBV (b). Sunt vizibile pierderea ciliilor, rotunjirea și detașarea celulelor epiteliale și infiltrarea inflamatorie a laminei propria.

Leziunile renale cauzate de IB sunt în principal cele ale nefritei interstițiale.¹ Virusul provoacă degenerare, vacuolizare și descuamare a epiteliului tubular și infiltrare masivă heterofilă a interstițiului în stadiile acute ale bolii. Pot fi observate zone focale de necroză, împreună cu dovezi ale regenerării epiteliului tubular. În unele cazuri, modificările degenerative pot persista și pot duce la atrofie severă a uneia sau a tuturor diviziunilor nefronilor. Dacă este prezentă urolitiaza, ureterele asociate cu rinichii atrofiați sunt dilatate cu urați, adesea sub

formă de calculi mari. ¹

Infecția oviductului găinilor mature cu IBV provoacă o scădere a înălțimii sau pierderea ciliilor din celulele epiteliale, dilatarea glandelor tubulare, infiltrarea limfocitelor și a altor celule mononucleare, plasmocite și heterofile, precum și edem și fibroplazie a mucoasei în toate regiunile oviductului. În cazurile de IBV fără coinfecții, leziunile histologice din tractul enteric par a fi foarte ușoare.[1]

DIAGNOSTIC

Diagnosticul IBV se bazează pe istoricul clinic, leziuni, seroconversie, detectarea antigenului IBV, izolarea virusului și detectarea ARN-ului său. ³⁰ Diagnosticul complet include identificarea serotipului sau genotipului virusului în scopul utilizării vaccinurilor adecvate. Este important de reținut că nicio tehnică singulară, fie ea bazată pe anticorpi, captarea antigenului, izolarea virusului sau moleculară, nu este pe deplin satisfăcătoare pentru confirmarea infecției cu un serotip specific de IBV pe teren.¹ Alegerea unui test față de altul se bazează pe factori precum tipul de probă, disponibilitatea materialelor și facilităților și timpul de procesare a rezultatelor.²²

Dosar medical

IB este suspectată atunci când apar semne respiratorii la animale de diferite vârste sau când producția de ouă scade sau apar probleme de calitate a ouălor la găinile ouătoare, ambele putând duce la mortalitate. Semnele clinice nu sunt adesea patognomonice; prin urmare, în majoritatea cazurilor, testele de laborator sunt necesare pentru un diagnostic definitiv.

Necropsia și recoltarea probelor

De îndată ce devin evidente semnele clinice, trebuie obținute probe adecvate în funcție de forma de infecție bacteriană (IB) observată. În cazurile de boală respiratorie acută, probele trebuie prelevate prin prelevarea de probe din tractul respirator superior al păsărilor vii sau din țesutul traheal și pulmonar de la păsările bolnave · La păsările cu nefrită sau probleme de producție de ouă, pe lângă probele respiratorii, trebuie prelevate probe din rinichi, respectiv oviduct. Atunci când se recoltează probe dintr-un efectiv mare, probele trebuie prelevate atât de la păsările sănătoase, cât și de la cele cu semne clinice. Tampoanele traheale (de preferință plasate în soluții tamponate sau PBS) sau țesutul traheal proaspăt sunt proba ideală, în special în prima săptămână de la infecție. Probele trebuie păstrate la frigider (cu conservanți reci, gheață umedă sau o ladă frigorifică) și trimise la laborator cât mai curând posibil; dacă acest lucru nu este posibil, acestea trebuie congelate până la expediere. Titrurile virale IBV ating un vârf în trahee în zilele 3-5 după infecție, apoi scad rapid. Deoarece virusul se reproduce inițial în tractul respirator superior și apoi se răspândește în țesuturile non-respiratorii, rinichii și amigdalele cecale prelevate în timpul *examinării post-mortem,* Tamponurile cloacale, precum și alte probe, pot fi valoroase în cazurile în care a trecut mai mult de o săptămână de la debutul infecției. Este important să ne amintim că virusurile vaccinale pot persista și în amigdalele cecale. În cazurile ușoare de IB, semnele clinice datorate virusului pot trece neobservate până când apar agenți patogeni secundari, moment în care IBV nu mai este prezent.¹⁰

Izolarea virală

Izolarea virusului este *standardul de aur* pentru diagnosticarea IBV, deși nu este utilizată

în mod curent. ^{110,22} Probele pentru izolarea virusului sunt de obicei inoculate în cavitatea alantoidiană a ouălor de găină embrionate SPF *(fără agenți patogeni specifici)* după 9 până la 10 zile de incubație sau în culturi inelare traheale. În oricare dintre sisteme, fluidele trebuie colectate după 48-72 de ore și pasate de cel puțin 3-4 ori înainte de a fi considerate negative, pe baza absenței leziunilor embrionare sau a morții sau a ciliostazei în culturile traheale. ^{22,30} Deoarece aceste observații nu sunt suficiente în sine pentru a confirma prezența IBV, iar izolarea virusului implică limitări tehnice și de timp, prezența virusului este în general confirmată prin metode moleculare.

Detectarea prin metode moleculare

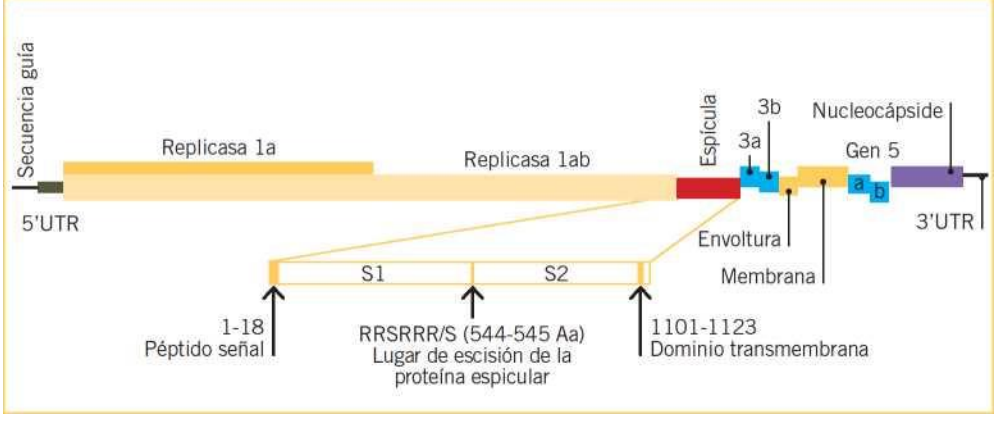
Încă din anii 1990, testele convenționale de reacție în lanț a polimerazei cu transcriptază inversă (RT-PCR) au fost utilizate pentru a detecta diferite regiuni și fragmente ale genomului IBV. [10] , [22] Pe de o parte, RT-PCR bazată pe *gena UTR (regiuni netraduse:* Regiunile necodificatoare (conservate) sunt utilizate pentru detectarea universală, deoarece este o regiune

extrem de conservată în multe serotipuri de IBV.22131 Pe de altă parte, amplificarea și secvențierea genei [S1] *oferă* un instrument bun pentru clasificarea genotipică a tulpinilor circulante și emergente22,31 (Fig. 7). Este de menționat că etapa în ouă embrionate poate fi necesară înainte de obținerea unui rezultat PCR pozitiv.1

RT-PCR în timp real sau cantitativ este din ce în ce mai utilizat pentru detectarea IBV direct din probele clinice. [22,31-34] Avantajele acestui test includ: (i) sensibilitate și specificitate mai mari; (ii) viteză; (iii) cost mai mic; și (iv) posibilitatea cuantificării încărcăturii virale IBV din probă. [122]

Progresele recente în RT-PCR cantitativ permit diferențierea între tulpinile de teren și cele vaccinale. [22,34-36] **ÇrOo**

Alte tipuri de PCR utilizate în detectarea IBV includ PCR ani- given [3738], PCR *multiplex* [39] sau amplificare izotermă mediată prin buclă de transcripție inversă (RT-LAMP). Deși aceste metode sunt mai sensibile decât RT-PCR standard, ele sunt și mai scumpe. [22]



7. Organizarea genomului IBV.

Genotiparea prin secvențiere

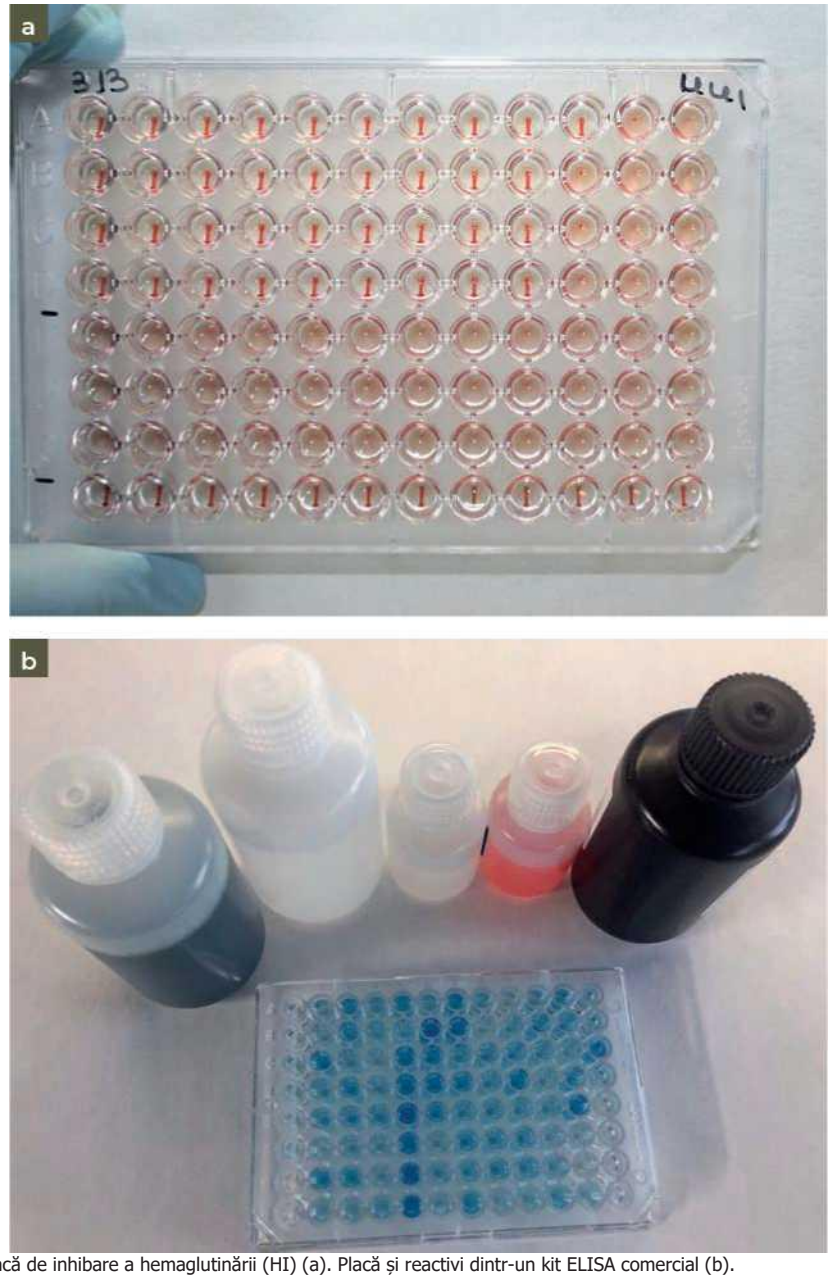
Cea mai utilizată metodă de tipizare genetică pentru IBV este analiza *secvenței genei S1 sau* a regiunii sale hipervariabile.^[1,10,22] Rezultatele pot fi utilizate pentru a identifica orice tip de IBV, inclusiv genotipuri circulante, tulpini izolate și variante de teren nerecunoscute anterior. ² Analiza filogenetică a izolatelor de teren cu tulpini de referință este un instrument util pentru stabilirea relației genetice dintre tulpini. ^[1,10,22] *Secvențierea de generație următoare (NGS)* este utilizată în prezent pentru secvențierea genomurilor întregi , ^[40-42] deși această abordare a fost aplicată doar în laborator.

Serologie: detectarea anticorpilor împotriva IBV

Anterior, testele serologice precum neutralizarea virală și inhibarea hemaglutinării (HI) erau utilizate în mod curent pentru a detecta și serotipifica tulpinile de IBV. Aceste teste au fost folosite și pentru a măsura protecția efectivului după vaccinare. Pe de º parte, testul de neutralizare la ouăle de găină embrionate nu mai este utilizat deoarece este laborios și costisitor. Pe de altă parte, testul HI [permite] detectarea și cuantificarea anticorpilor (IgG) împotriva unor serotipuri specifice de IBV prin utilizarea unor antigene diferite din serotipurile circulante, deși există reactivitate încrucișată a anticorpilor între aceștia (Fig. 8a). Este o tehnică cu sensibilitate și specificitate bune , dar este laborioasă, necesită personal calificat și este mai puțin [ușor] de automatizat decât tehnica ELISA (Fig. 8b).

În prezent, testul ELISA este cea mai utilizată metodă serologică pentru detectarea anticorpilor împotriva IBV. Testele disponibile comercial detectează, în general, anticorpii (IgG) la 1 săptămână după infecție. ^[1,10,22] De asemenea, au fost descrise tehnici ELISA experimentale pentru detectarea anticorpilor specifici anumitor serotipuri.^[1] Testul ELISA este sensibil, ieftin și ușor de utilizat pentru evaluarea răspunsului anticorpilor după vaccinare sau infecție (un număr mare de probe poate fi analizat rapid). Cu toate acestea, apariția diferitelor serotipuri de IBV care nu reacționează încrucișat cu antiserurile disponibile în mod obișnuit înseamnă că testele serologice sunt neconcludente pentru clasificarea tulpinilor de IBV noi sau emergente. ^[22] Utilizarea combinată a tehnicilor ELISA și *Western blot* oferă o sensibilitate mai mare în comparație cu ELISA comercial. ^[43]

Pentru un diagnostic serologic precis, este esențial să se înțeleagă metoda utilizată și modul de interpretare a rezultatelor. În plus, pentru a compara rezultatele serologice și a determina dacă a avut loc seroconversia, este important să se utilizeze în mod constant aceeași metodă și, ori de câte ori este posibil, să se aibă profiluri serologice definite pentru fiecare fermă sau companie avicolă, bazate pe experiența sa.



Placă de inhibare a hemaglutinării (HI) (a). Placă și reactivi dintr-un kit ELISA comercial (b).

PREVENIRE ȘI CONTROL

Vaccinuri

Vaccinarea a fost cea mai importantă metodă de control al IB [24] (Fig. 9a și 9b). Scopul unui program de vaccinare este de a acoperi spectrul antigenic al tulpinilor dintr-o anumită țară sau regiune. Prin urmare, este necesar să se cunoască tulpinile sau genotipurile predominante care circulă într-o regiune pentru a determina cel mai eficient protocol de vaccinare. [24, 34] Atunci

când vaccinurile cu un singur serotip nu oferă o protecție suficientă împotriva tulpinilor predominante din câmp, se pot adăuga la program vaccinuri multiserotip. Extinderea protecției poate fi obținută prin adăugarea de vaccinuri omoloage cu cele mai importante tulpini predominante din câmp sau prin utilizarea de combinații de vaccinuri care pot induce o protecție încrucișată largă împotriva mai multor tulpini. [1]

Pe măsură ce apar noi serotipuri și variante, sunt produse în mod continuu noi vaccinuri pentru a combate serotipurile de importanță regională. [13] '44

9 Vacunación mediante *spray* en incubadora (a). Vacunación mediante gotitas de gel (b).

În imunizarea împotriva IBV se utilizează atât vaccinuri cu virusuri vii (atenuate), cât și

vaccinuri cu virusuri inactivate (înactivate) . Majoritatea programelor de vaccinare utilizează vaccinuri cu virusuri vii atenuate, disponibile comercial pentru administrare prin apa potabilă sau prin pulverizare . la păsările tinere pentru a obține o protecție timpurie și vaccinarea primară a găinilor de reproducție și a găinilor ouătoare. [1 , 44 , 45] Deoarece durata imunității după vaccinurile cu virusuri vii atenuate este scurtă, vaccinarea de rapel se efectuează cu același vaccin sau cu combinații de alte tulpini la 2-3 săptămâni după vaccinarea inițială. [45]

Majoritatea vaccinurilor vii atenuate disponibile comercial sunt derivate din tulpini virulente, serotipul 1 din Massachusetts (linia GI-1) fiind cel mai frecvent , deși unele tulpini cu impact regional sau local au fost utilizate în diferite părți ale lumii. [13 , 44] Cel mai comun program de vaccinare constă în utilizarea vaccinurilor vii atenuate din Massachusetts și 793B, fie împreună, fie la intervale de câteva zile, pentru a conferi o protecție largă împotriva diferitelor tulpini circulante.

Factorii negativi asociați cu vaccinurile vii atenuate ar fi putut contribui la apariția crescută a tulpinilor genetic diverse de IBV, ceea ce subminează eforturile de control al bolii. [19 , 24 , 46]

Pe de altă parte, vaccinurile inactivate în emulsie uleioasă sunt utilizate singure sau în combinație cu vaccinuri vii atenuate împotriva IBV.^[45] Aceste vaccinuri sunt în general administrate individual (prin injecție intramusculară sau subcutanată) găinilor de reproducție și ouătoarelor înainte de începerea producției de ouă și puicuțelor cu vârsta cuprinsă între 10 și 18 săptămâni.^[1] Eficacitatea vaccinurilor inactivate depinde în mare măsură de vaccinarea prealabilă adecvată cu vaccinuri vii. Vaccinurile inactivate induc niveluri ridicate de anticorpi în ser și oferă protecție țesuturilor interne (rinichi și tract reproducător). Cu toate acestea, acest răspuns umoral este de scurtă durată și nu este însoțit de un răspuns celular care să inhibe infecția locală a tractului respirator. ^[1,45] Prin urmare, vaccinurile inactivate necesită în majoritatea cazurilor vaccinarea primară cu vaccinuri vii atenuate, doze mari de adjuvanți și/sau mai multe vaccinări repetate, ceea ce poate crește costurile.^[45]

Avantajele și dezavantajele vaccinurilor cu virusuri vii atenuate

Las ventajas de las vacunas vivas atenuadas incluyen: [4145]

La posibilidad de aplicación en masa, lo que reduce los costes de vacunación.
La estimulación de la inmunidad local, que evita la infección del tracto respiratorio.
La estimulación de la inmunidad celular, que proporciona una respuesta protectora más amplia que las vacunas muertas.

Las desventajas de las vacunas vivas incluyen: [112445]

Poca termoestabilidad.
Reversión a virulencia.
Interferencia con la replicación de otras vacunas vivas y con la inmunidad materna.
Daño tisular.
Recombinación con virus de campo.

Noile tulpini circulante pot fi utilizate pentru a prepara vaccinuri inactivate autogene pentru a controla IBV la găinile ouătoare, fără riscurile administrării unei variante vii care s-ar putea răspândi și ar putea provoca boli în efectivele sau fermele din apropiere. Aceste vaccinuri inactivate pot oferi o protecție mai bună împotriva expunerii la noi tulpini circulante de IBV decât vaccinurile inactivate care conțin serotipuri standard, cum ar fi Massachusetts și Connecticut.^{[1}sup>

Numeroase studii au fost efectuate pentru a dezvolta vaccinuri IBV mai noi și mai eficiente, cum ar fi vaccinurile recombinante (bazate pe vectori virali, subunități sau peptide), vaccinurile ADN sau vaccinurile cu genetică inversă, dar niciunul dintre acești candidați nu a ajuns pe piață. Până în prezent, nu au fost utilizate vaccinuri IBV *in ovo* ; toate vaccinurile disponibile comercial reduc ratele de eclozare la niveluri inacceptabile. Vaccinarea cu picături de gel, concepută inițial pentru coccidioză, începe să fie utilizată ca un nou instrument în vaccinarea împotriva IBV.

Alte instrumente de control și prevenire

Astăzi, nimeni nu se îndoiește de faptul că controlul IB sau al oricărei alte boli necesită măsuri stricte de biosecuritate, cum ar fi curățenia și dezinfecția , combaterea dăunătorilor, împrejmuirea perimetrală,

controlul accesului, utilizarea de îmbrăcăminte și materiale separate pentru fiecare clădire, gestionarea deșeurilor etc. Toate aceste practici de management de bază reduc la minimum riscul introducerii IBV.

Când virusul este deja prezent în fermă, este necesar să se adopte măsuri de igienă pentru a elimina sau a minimiza nivelurile de virus infecțios. Strategiile de curățare și dezinfecție pot varia. Curățarea chimică implică îndepărtarea tuturor materialelor organice din clădire (în cazul pardoselilor din pământ, aceasta ar trebui să includă îndepărtarea primilor 4-5 cm). Curățarea umedă folosește apă cu detergenți la presiune înaltă (35-55 bari) pentru a asigura îndepărtarea tuturor materialelor organice. Dezinfecția necesită aplicarea unui dezinfectant adecvat pentru a reduce infecțiozitatea oricăror particule virale rămase.

Fiind un virus încapsulat, IBV este ușor de eliminat cu dezinfectanți utilizați în mod obișnuit în fermă, dar este esențial ca aceștia să fie aplicați la concentrația și pentru timpul de contact recomandate de producător și în absența materiei organice.¹ În general, produsele care conțin formaldehidă, agenți de eliberare a clorului sau compuși cuaternari de amoniu sunt potrivite. De exemplu, s-a demonstrat că IBV este sensibil la eter, cloroform 50% și deoxicolat de sodiu 0,1% la 4 °C timp de 18 ore efective.¹

În plus, coronavirusurile sunt sensibile la căldură (inactivate la 56°C timp de 15 minute), dar pot supraviețui până la 56 de zile atunci când temperatura ambiantă este sub zero grade.¹ Timpul de nefuncționare între efectivele succesive de găini trebuie maximizat (se recomandă un minim de 10 zile). Controlul virusului IBV în fermele cu vârste multiple este extrem de complex și necesită o monitorizare strictă a mișcării personalului și a echipamentelor între adăposturi.

Practici de gestionare care vizează menținerea calității aerului și reducerea posibilității de infecție cu *Escherichia coli,* Micoplasmele și alte infecții virale, cum ar fi virusul laringotraheitei infecțioase, pneumovirusul aviar și virusul bolii Newcastle, vor reduce impactul economic al infecției cu IBV.

BIBLIOGRAFIE

1. JACKWOOD MW, WIT S. BRONȘITĂ INFECȚIOASĂ . În: SWAYNE DE , GLISSON JR , MCDOUGALD LR , *și alții (eds* .) . *Boli ale păsărilor de curte.* WILEY - Blackwell , 2013; p. 139-159.
2. L AI MM, C AVANAGH D. Biologia moleculară a coronavirusurilor. *Adv Virus Res,* 1997; 48:1-100.
3. JACKWOOD MW, HALL D , HANDEL A. EVOLUȚIA MOLECULARĂ ȘI APARIȚIA gammacoronavirusurilor aviare. *Infect Genet Evol, 2012* ; 12(6):1305-1311.
4. DE W IT JJ, COOK JK , VAN DER HEIJDEN HM . Variante ALE virusului bronșitei infecțioase: o trecere în revistă a istoricului, situației actuale și măsurilor de control. *Avian Pathol,* 2011; 40(3):223-235.
5. JIA W , KARACA K, P ARRISH CR, N AQI SA . O nouă variantă a virusului bronșitei infecțioase aviare rezultată din recombinarea a trei tulpini diferite. ARCH *Virol,* 1995; 140(2):259-271.

6. L IM TH, L EE HJ, L EE DH *și colab.* Un grup recombinant emergent de tulpini nefropatogene ale virusului bronșitei infecțioase aviare în Coreea. *Infect Genet Evol,* 2011; 11(3):678-685.
7. L iu X, SHAO Y, M A H *și colab. Analiza comparativă a patru genomuri de coronavirus de bronșită infecțioasă* DE tip Massachusetts relevă o nouă tulpină de tip Massachusetts și dovezi ale recombinării naturale în genom. *Infect Ge net Evol,* 2013; 14:29-38.
8. Z HOU H, Z HANG M, TIAN X și *colab.* Identificarea unui nou virus recombinant virulent al bronșitei infecțioase aviare. VET *Microbiol,* 2017; 199:120-127.
9. C AVANAGH D, PICAULT JP, G OUGH R , *et al.* Variația proteinei spike a virusului bronșitei infecțioase de tip 793/B, în câmp și în timpul pasajelor alternative LA pui și ouă embrionate. *Avian Pathol,* 2005; 34(1):20-25.
10. OIE. *Manualul terestre,* capitolul 2.3.2. Bronșită infecțioasă aviară. 2018.
11. MOORE KM, JACKWOOD MW, HILT DA . Identificarea aminoacizilor implicați într-un serotip și un epitop specific de neutralizare în cadrul subunității s1 a virusului bronșitei infecțioase aviare. ARCH VIROL , *1997* ; 142(11):2249-2256.
12. AVANAGH D, DAVIS PJ , MOCKETT AP. Aminoacizii din regiunea hipervariabilă 1 a glicoproteinei spike a IBV (serotip Massachusetts) a coronavirusului aviar sunt asociați cu epitopi de neutralizare. VIRUSRES , *1988* ; 11(2):141-150.
13. JACKWOOD MW . Recenzie a virusului bronșitei infecțioase în întreaga lume. *Avian Dis,* 2012; 56(4):634-641.
14. VALASTRO V, H OLMES EC, BRITTON P, *et al.* Filogenia virusului bronșitei infecțioase bazată pe gena S1: O încercare de armonizare a clasificării virusurilor. INFECT GENET *Evol,* 2016; 39:349-364.
15. MCKINLEY ET, HILT DA , JACKWOOD MW . Vaccinurile vii atenuate împotriva bronșitei infecțioase cu coronavirus aviar SUNT supuse UNEI SELECȚII DE subpopulații și mutații după vaccinare. *Vaccine,* 2008; 26(10):1274-1284.
16. VAN S ANTEN VL, T ORO H. Selecție rapidă la pui a subpopulațiilor din cadrul vaccinurilor împotriva virusului bronșitei infecțioase derivate din ArkDPI. *Avian Pathol,* 2008; 37(3):293-306.
17. G ALLARDO RA, VAN S ANTEN VL, T ORO H. Selecția intraspațială a populațiilor de virusuri ale bronșitei infecțioase la nivelul gazdei. *Avian Dis,* 2010; 54(2):807-813.
18. DE W IT JJ, CAZABAN C, D IJKMAN R, *et al.* Detectarea diferitelor genotipuri de virus al bronșitei infecțioase și de virus al bursitei infecțioase la puii de carne europeni în timpul unui studiu epidemiologic din 2013 și consecințele asupra abordării diagnostice. AVIAN *Pathol,* 2018; 47(2):140-151.
19. F RANZO G, TUCCIARONE CM, BLANCO A , *și alții.* Efectul diferitelor strategii de vaccinare asupra dinamicii populației IBV QX și a focarelor clinice. VACCINE , *2016* ;

34(46):5670-5676.

20. MORENO A, FRANZO G, MASSI P, *et al.* O nouă variantă a virusului bronșitei infecțioase rezultată în urma evenimentelor de recombinare din Italia și Spania. AVIAN *Pathol,* 2017; 46(1):28-35.
21. MARANDINO A, VAGNOZZI A, CRAIG ML și *alții. Heterogenitatea genetică și antigenică a virusului bronșitei infecțioase în America* DE Sud: implicații pentru programele de control. *Avian Pathol,* 2019 ; 48(3):270-277.
22. BANDE F , ARSHAD SS, OMAR AR , *et al.* Patogeneza și abordări diagnostice ale bronșitei infecțioase aviare. ADV *Virol,* 2016; 2016:4621659.
23. C AVANAGH D. Virusul bronșitei infecțioase aviare Coronavirus. *Vet Res,* 2007; 38(2):281-297.
24. BANDE F , ARSHAD SS, OMAR AR și *colab.* Distribuțiile globale și diversitatea tulpinilor virusului bronșitei infecțioase aviare: o analiză. *Anim Health Res Rev, 2017; 18(1*) :70-83.
25. BOUWMAN KM, PARSONS LM, BERENDS AJ și *colab.* Trei modificări ale aminoacizilor din proteina spike a coronavirusului aviar permit legarea la țesutul renal. J VIROL , 2019.
26. DE W IT JJS, COOK JKA . În centrul atenției patologia aviară: virusul bronșitei infecțioase . *Avian Pathol,* 2019; 48(5):393-395.
27. R EN G, L IU F, H UANG M *și colab.* Patogenitatea unui virus al bronșitei infecțioase aviare de tip QX izolat în China. *Poult Sci,* 2019.
28. A. MARASINGHE A, P. OPOWICH S, D. SILVA S. ENAPATHI U. și *alții. Sindromul* ouălor fără coajă (SES) , răspândit în exploatațiile de găini ouătoare din vestul Canadei, este legat de un izolat de virus al bronșitei infecțioase (IBV) de tip Massachusetts (Mass). *Viruses,* 2018; 10(8):10.3390/v10080437.
29. COOK UK , JACKWOOD M, JONES RC . Perspectiva pe termen lung: 40 de ani de cercetare A bronșitei infecțioase . *Avian Pathol,* 2012; 41(3):239-250.
30. G ELB JJ, JACKWOOD MW. Bronșită infecțioasă. În: D UFOUR -Z avala L, S wayne DE, Glisson JR ȘI colab . (eds) . Manual *de* laborator PENTRU *izolarea, identificarea și caracterizarea agenților patogeni aviari.* Kennett Square, PA, Asociația Americană a Patologilor Aviari, 2008; p. 146-149.
31. N AGUIB MM, E L -K ADY MF, L USCHOW D *și alții.* Noi RT-PCR-uri în timp real și convenționale pentru diagnosticul molecular actualizat al infecției cu virusul bronșitei infecțioase (IBV) la puii din Egipt, asociate cu co-infecții frecvente cu virusurile gripei aviare și bolii Newcastle. *J Virol Methods,* 2017; 245:19-27.
32. ROH HJ , HILT DA, JACKWOOD MW. Detectarea virusului bronșitei infecțioase cu ajutorul PCR cantitativă în timp real cu transcriptază inversă și corelarea cu detectarea virusului în ouăle embrionate. AVIAN *Dis, 2014; 58(3)* : 398-403.

33. M o J, ANGELICHIO M, G OW L, *et al.* Validarea panelului de teste RT-PCR cantitative în timp real specifice pentru bronșita infecțioasă utilizând standarde de ADN sintetic și specimene clinice. *J Virol Methods,* 2019; 276:113773.
34. L ACONI A, BERENDS AJ, DE L AAT ECH , *et al. Genotiparea* virusului bronșitei infecțioase de tip masiv (GI-1) și QX-like (GI-19) și diferențierea vaccinurilor utilizând SYBR green RT-qPCR asociată cu analiza curbei de topire. *J Virol Methods,* 2020; 275:113771.
35. FRAGA AP, IKUTA N, F ONSECA AS , *și alții. O* reacție în lanț a polimerazei cu transcripție inversă în timp real pentru diferențierea GENOTIPURILOR DE VACCIN DIN MASSACHUSETTS ȘI A genotipurilor de câmp braziliene ale virusului bronșitei infecțioase aviare. *Avian Dis,* 2016; 60(1):16-21.
36. STENZEL T, D. ZIEWULSKA D, S. MIALEK M , *și alții.* Diferențierea tulpinilor vaccinale Ma5 și 4/91 ale virusului bronșitei infecțioase prin PCR în timp real cu TaqMan. POL *J Vet Sci,* 2017; 20(3):599-601.
37. SEGER W, GHALYANCHI LANGEROUDI A , K ARIMI V, *et al.* Genotiparea virusurilor bronșitei infecțioase din fermele de pui de carne din Irak în perioada 2014-2015. ARCH VIROL , 2016; 161(5):1229-1237.
38. C HACON RD, A STOLFI -F ERREIRA CS, C HACON JL, *et al.* O RT-PCR seminested pentru genotiparea moleculară a tulpinii braziliane de virus al bronșitei infecțioase BR-I (GI-11). *Mol Cell Probes,* 2019; 47:101426.
39. ROH HJ , HILT DA, JACKWOOD MW. Detectarea simultană a cinci serotipuri majore DE CORONAVIRUS AVIAR PRINTR -un test multiplex bazat pe microsfere. *J Vet Diagn Invest,* 2013; 25(4):458-466.
40. KEEP SM, B ICKERTON E, B RITTON P. PURIFICARE PARȚIALĂ A IBV ȘI IZOLAREA ULTERIOARĂ A ARN -ului viral pentru secvențierea de generație următoare. *Methods Mol Biol,* 2015; 1282:109-112.
41. REDDY VR, THEUNS S, ROUKAERTS ID , *și alții.* Caracterizarea genetică a tulpinii de referință B1648 a virusului bronșitei infecțioase nefropatogene belgiene (NIBV). *Viruses, 2015;* 7 (8):4488-4506.
42. D IMITROV KM, S HARMA P, V OLKENING JD și *colab.* O abordare robustă și rentabilă pentru secvențierea și analizarea genomurilor complete ale virusurilor ARN mici. *Virol J,* 2017; 14(1):72.
43. FINGER PF , P EPE MS, D UMMER LA , *și alții.* Utilizarea combinată a ELISA și Western blot cu proteina N recombinantă este un instrument puternic pentru imunodiagnosticul bronșitei infecțioase aviare. *Virol J,* 2018; 15(1):189.
44. JORDAN B. Vaccinarea împotriva virusului bronșitei infecțioase: o provocare continuă . Vet *Microbiol,* 2017; 206:137-143.

45. BANDE F , ARSHAD SS , BEJO MH și *alții.* PROGRESE și provocări în dezvoltarea - vaccinurilor împotriva bronșitei infecțioase aviare. *J Immunol Res,* 2015; 2015:424860.
46. F RANZO G, LEGNARDI M, TUCCIARONE CM , *și alții.* EVOLUȚIA virusului bronșitei infecțioase în teren după introducerea vaccinării omoloage. *Vet Res,* 2019 ; 50(1):92.
47. T AN L, W EN G, Q IU X *și colab. O* tulpină vaccinală recombinantă La Sota care exprimă epitopi multipli ai virusului bronșitei infecțioase (IBV) protejează puii fără agenți patogeni specifici (SPF) împotriva provocărilor cu IBV și NDV. *Vaccins (Basel),* 2019; 7(4):10.3390/vaccines7040170.
48. TUCCIARONE CM, F RANZO G, BIANCO A , *și colab. Vaccinarea* PE gel cu virusul bronșitei infecțioase : evaluarea cineticii vaccinurilor Mass-like (B-48) și 793/B-like (1/96) după administrarea combinată la vârsta de 1 zi. *Poult Sci,* 2018; 97(10):3501-3509.

^2 Gripe

INTRODUCERE

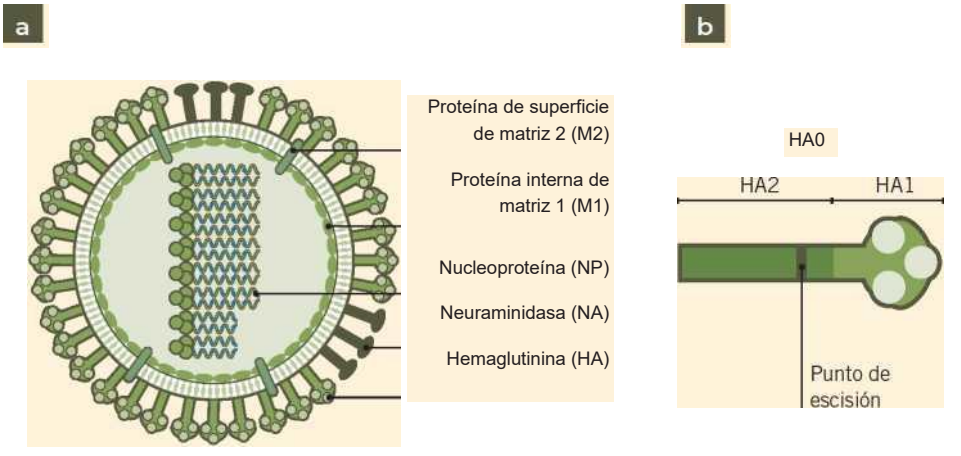
Gripa aviară (IA) este o boală a păsărilor domestice care are efecte economice devastatoare asupra industriei avicole la nivel mondial.^[1] Boala reprezintă o amenințare globală nu numai pentru industria avicolă , ci și pentru sănătatea publică și conservarea faunei sălbatice . Păsările acvatice sălbatice sunt rezervoarele naturale ale virusurilor *gripale aviare slab patogene (* LPAIV) la nivel mondial și pot transmite aceste virusuri păsărilor domestice. Aceste LPAIV, la rândul lor, se pot transforma în *virusuri gripale aviare înalt patogene (* HPAIV). La sfârșitul anilor 1990, apariția și răspândirea intercontinentală a liniei gâscă/Guangdong (Gs/GD) HPAIV H5Nx și LPAIV H9N2 au expus vulnerabilități în sistemele de prevenire și control al bolilor , în special în sistemele complexe de producție și comercializare lipsite de biosecuritate. În plus, AIV este capabilă să provoace infecții la oameni care pot fi fatale.

Capacitatea de a prezice apariția virusurilor aviare agresive (AVI) zoonotice sau cu potențial pandemic reprezintă o provocare majoră atât pentru industria avicolă, cât și pentru sănătatea publică. [1] **CrOo**

ETIOLOGIE

AIV este un virus ARN monocatenar, cu sens negativ, învelit, aparținând genului de tip A din *familia Orthomyxoviridae*. [2] Virusurile de tip A sunt cei mai răspândiți și importanți membri ai grupului și pot infecta multe specii diferite de păsări și mamifere, inclusiv oamenii. Aceste virusuri au opt segmente genetice diferite care codifică cel puțin zece proteine virale diferite: proteine de suprafață, interne și nestructurale (Fig. 1a). Printre acestea, glicoproteinele de suprafață hemaglutinina (HA) (Fig. 1b) și neuraminidaza (NA) joacă roluri cruciale în ciclul de viață viral: proteina HA permite virusului să se lege de acidul sialic al receptorului celulei gazdă, inițiind endocitoza, în timp ce NA facilitează eliberarea virionilor pentru a finaliza ciclul infecțios. [1-3] Astfel, HA în special, dar și NA, sunt proteine deosebit de relevante în patogenitatea AIV-urilor și în protecția conferită de anticorpii neutralizanți. Alte proteine relevante pentru diagnostic și imunitate sunt nucleoproteina internă (NP) și proteinele matricei 1 (M1) și proteina de suprafață a matricei 2 (M2).

Toate virusurile gripale aviare (AIV) sunt clasificate pe baza tipizării serologice a glicoproteinelor HA și NA, 16 HA și 9 NA (în orice combinație) fiind diferitele subtipuri descrise până în prezent la păsări. În plus, AIV pot fi clasificate în două patotipuri diferite (LP și HP) pe baza capacității lor de a provoca boli și moarte la pui *(Gallus gallus)*. [1-3]



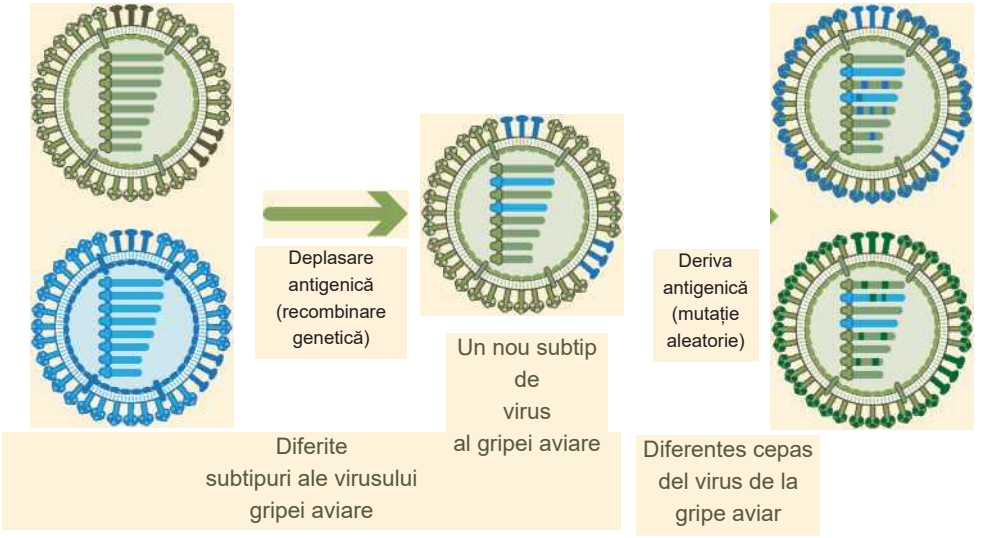
1. Structura virusului gripei aviare (a). Reprezentare schematică a hemaglutininei și a locului de clivaj în HA2 (b).

Determinanți ai virulenței

Unul dintre principalii factori determinanți ai virulenței este secvența de aminoacizi prezentă la locul de scindare a proteinei HA. ¹¹² HA trebuie scindată în două subunități pentru a infecta o celulă (Fig. 1b). În mod normal , proteazele de tip tripsină scindează HA din LPAIV prin recunoașterea argininelor individuale. Deoarece aceste proteaze sunt prezente doar în sistemele respirator și digestiv, distribuția LPAIV este limitată la aceste organe. Cu toate acestea, atunci când mai mulți aminoacizi bazici (lizină și arginină) sunt prezenți la locul de scindare HA, caracteristic HPAIV, acest loc de scindare devine accesibil furinelor și altor proteaze găsite în majoritatea celulelor aviare. Acest lucru permite HPAIV să se replice în diverse tipuri de celule și organe critice, cum ar fi creierul, inima și pancreasul, provocând insuficiență sistemică și moarte. Alte proteine virale și factori gazdă, cum ar fi vârsta și specia, joacă, de asemenea, un rol în virulență. În plus, HPAIV, prin definiție, provoacă mortalitate la pui, dar nu neapărat la alte specii. [1214]

Diversitate genetică și antigenică

Virusurile gripei aviare virale infecțioase (IVA) prezintă o variabilitate genetică ridicată datorită ratei lor mari de mutație (drift genetic) și capacității lor de a recombina segmente genetice (*schimbare genetică)* (Fig. 2). Ambele mecanisme permit virusului să se schimbe și să se adapteze rapid, contribuind la capacitatea sa de a infecta noi specii și de a se sustrage sistemului imunitar, cu implicații importante pentru vaccinare. [1215]

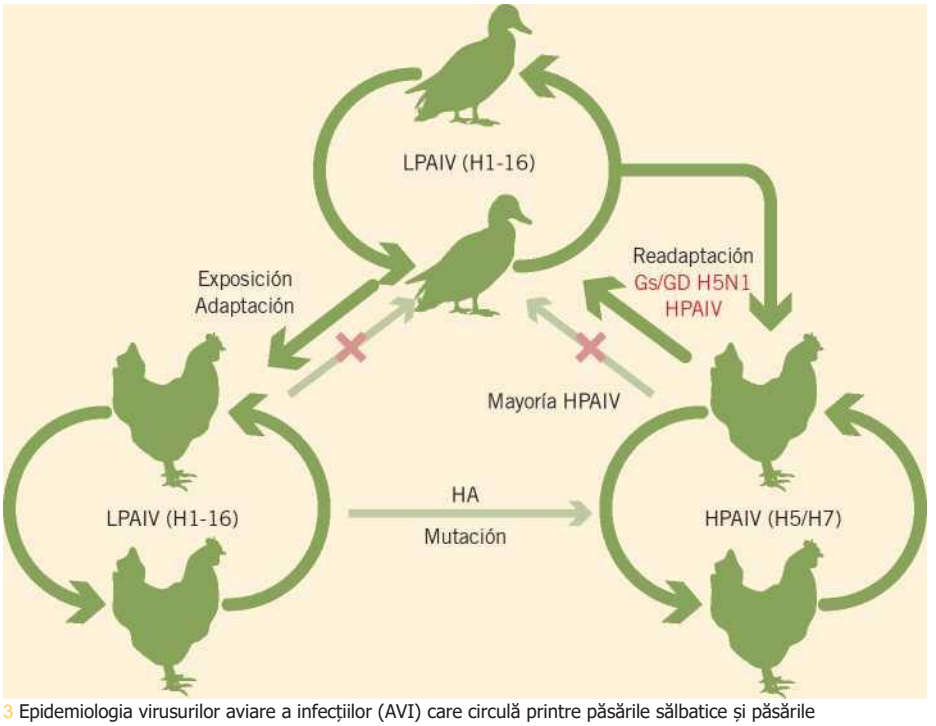

Deplasare antigenică (recombinare genetică)
Un nou subtip de virus al gripei aviare
Deriva antigenică (mutație aleatorie)
Diferite subtipuri ale virusului gripei aviare
Diferentes cepas del virus de la gripe aviar

2. Modificarea antigenică și derivă antigenică a virusului gripei aviare.

EPIDEMIOLOGIE

Virusurile aviare (VAV) infectează o mare varietate de păsări domestice și sălbatice. ^{6,7} Păsările acvatice sălbatice, în special *Anseriformele* (rațe, gâște și lebede) și *Charadriiformele* (pescăruși și păsări de țărm), sunt rezervoarele naturale ale tuturor VAV-urilor, genetic LPAIV (Fig. 3). În rezervorul lor, LPAIV provoacă în general infecții asimptomatice și sunt transmise pe cale fecal-orală, ceea ce implică faptul că aceste virusuri sunt prezente și persistente în mediul în care se găsesc aceste păsări, în special în apă și fecale.⁸ Aceste LPAIV au fost transmise periodic de la păsările acvatice sălbatice la păsările domestice, la care produc infecții subclinice sau, ocazional, boli respiratorii și căderea ouălor. ^{6,7} Atunci când circulă la păsările domestice, LPAIV din subtipurile H5 și H7 pot suferi mutații și pot deveni HPAIV (în principal prin dobândirea unei secvențe multibazice de aminoacizi la locul de clivaj HA). Infecțiile aviare cu aport ridicat de substanțe patogene (HPAIV) cauzează boli sistemice severe cu mortalitate ridicată la păsările gallinacee *(Galliformes). Anumite practici care permit contactul direct cu păsările sălbatice sau cu fecalele acestora pot facilita expunerea păsărilor domestice la LPAIV provenite de* la păsările sălbatice, cum ar fi creșterea în libertate sau fermele cu biosecuritate scăzută.9 În plus, piețele de păsări vii sunt elemente cheie în apariția, menținerea și răspândirea AIV.1,9

Deși LPAIV-urile au o distribuție globală în populațiile de păsări acvatice sălbatice, HPAIV-urile nu sunt în mod normal foarte răspândite la aceste specii. ^[8] Cu toate acestea, această paradigmă s-a schimbat dramatic odată cu apariția liniei Gs/GD HPAIV H5N1 în 1996 (Fig. 3). ⁰ Spre deosebire de focarele anterioare de HPAIV, această linie a cauzat moartea păsărilor sălbatice, a păsărilor domestice și a oamenilor și, până în prezent, s-a răspândit în peste 80 de țări din Asia, Europa, Africa și America de Nord, justificând astfel termenul „panzootic". ^[11,12] Linia H5N1 Gs/GD a evoluat în 10 clade (pe baza caracterizării filogenetice și a omologiei secvenței genei HA) de virusuri distincte genetic (0-9) și subclade multiple. [13] Toate tulpinile Gs/GD au aparținut subtipului H5N1 până în 2008, când au fost identificate pentru prima dată diferite subtipuri NA (denumite H5Nx), crescând complexitatea acestei linii. Din 2014, clada 2.3.4.4 H5Nx a HPAIV s-a răspândit rapid prin păsările de apă migratoare și a evoluat prin recombinare cu LPAIV-uri locale predominante, provocând focare fără precedent la păsările domestice și sălbatice din Asia, Europa, America de Nord și Africa. [1132]



3 Epidemiologia virusurilor aviare a infecțiilor (AVI) care circulă printre păsările sălbatice și păsările domestice (adaptat după Sims *și colab.,* 2016).

Focarele de gripă aviară (IA) au fost recurente la păsările domestice din întreaga lume în ultimele decenii.^[14] Cu toate acestea, incidența și distribuția variază considerabil în funcție de regiunea geografică, specia și vârsta păsărilor, perioada anului și sistemul de creștere.^[1] Focarele de IA, și în special de gripă aviară cu risc ridicat (HPAI), au crescut exponențial în anii 1970, pe măsură ce populația globală de păsări de curte a crescut, efectivele mici au devenit ferme integrate mari și s-au dezvoltat zone dens populate. Pe măsură ce producția de păsări de curte continuă să crească, se

prevăd noi focare de HPAI. Este important de subliniat faptul că focarele de HPAIV atât la păsările domestice, cât și la cele sălbatice trebuie notificate la Organizația Mondială pentru Sănătatea Animalelor (OIE).

Majoritatea focarelor de HPAI au fost limitate geografic la un număr limitat de ferme și au fost eradicate cu succes.^[14] Cu toate acestea, unele HPAI s-au răspândit sau au persistat înainte de eradicare , iar altele, cum ar fi Gs/GD H5Nx, H7N3 în Mexic și H7N9 în China (acesta din urmă zoonotic), au continuat și au devenit enzootice în anumite țări din întreaga lume. ^[14-16] Focarele de HPAI în general, și cele persistente în special, au cauzat pierderi devastatoare industriei avicole, nu numai din punct de vedere economic, ci și prin milioanele de păsări ucise sau sacrificate.^[14-16]

Pe lângă LPAIV H5 și H7, care au capacitatea de a se transforma în HPAIV și, prin urmare, fac obiectul notificării obligatorii către OIE, LPAIV H9N2 este, de asemenea, un motiv de îngrijorare. Acest subtip este cel mai frecvent LPAIV la păsările domestice din întreaga lume și a devenit enzootic în Asia, Orientul Mijlociu, Africa și Europa . ^[17] Deși LPAIV H9N2 este clasificat drept LP, multe tulpini provoacă boli clinice semnificative la păsările domestice, iar unele tulpini sunt zoonotice.^[117]

LPAIV: SEMNE CLINICE ȘI LEZIUNI

Semne clinice

Majoritatea LPAIV-urilor nu provoacă semne clinice la rațele sau gâștele domestice. ^[16] La păsările galinacee, LPAIV-urile pot provoca infecții subclinice, dar - simptomele ușoare până la moderate sunt frecvente. ^[11,6,18] Semnele diferă în funcție de tulpina virusului și de specia și vârsta păsării și implică de obicei sistemele respirator, digestiv, urinar și reproducător. Dacă sunt prezente, semnele clinice sunt nespecifice și includ pene zbârlite, activitate scăzută, aport scăzut de hrană și apă, ceea ce duce la o ușoară pierdere în greutate, diaree și semne clinice la nivelul tractului respirator superior, cum ar fi tuse, strănut , raluri și secreții oculare excesive. La găini , poate exista o scădere cu 2-50% a producției de ouă și o scădere a calității ouălor (deformate, fragile și lipsite de pigment). ^[1,6,18,19]

LPAI are ca rezultat, de obicei, o morbiditate ridicată (>50%) și o mortalitate scăzută (<5%) în fermă. Cu toate acestea, mortalitatea poate crește la păsările tinere și la cele cu infecții concomitente sau condiții de mediu nefavorabile (de exemplu, exces de amoniac sau temperatură ambientală inadecvată). [1, 6, 18] În plus , anumite tulpini, cum ar fi LPAIV H9N2, pot provoca simptome respiratorii severe și o mortalitate de până la 20% .[17]

Leziuni macroscopice

Rinita și sinuzita sunt frecvente la păsările de curte infectate cu LPAIV, iar acestea sunt exacerbate de infecțiile bacteriene secundare. În trahee pot fi prezente edem , congestia, hemoragii și exudate seroase până la cazeoase. Dacă este prezentă infecția bacteriană, se poate constata bronhopneumonie fibrinopurulentă. Se poate observa aerosaculită sau poliserozită de la catarală la fibrinopurulentă. Leziunile din tractul reproducător al păsărilor adulte

includ regresia ovariană, hemoragii în foliculii mari care progresează spre lichefiere și peritonită la nivelul gălbenușului de ou . În plus, se poate observa salpingită de la catarală la fibrinoasă înainte de involuția oviductului.

Leziuni microscopice

Gripa aviară pulmonară infecțioasă (IPAIV) provoacă de obicei rinită, sinuzită, traheită și bronșită, cu prezența heterofilelor și limfocitelor asociate cu replicarea virală în celulele epiteliale ale tractului respirator superior. În cazuri mai severe, poate fi prezentă pneumonie, însoțită de edem difuz în capilarele aeriene. Nefroza și nefrita pot fi rareori observate la pui, iar acestea sunt exacerbate de dietele bogate în calciu. Leziunile pancreatice, cum ar fi necroza și pancreatita, sunt, de asemenea, rare, dar au fost descrise la curcani și cu anumite tulpini de IPAIV. La păsările care mor din cauza IPAIV, bursa lui Fabricius, timusul, splina și alte organe limfoide prezintă o pierdere de limfocite . ^[1,6,18]

HPAIV: SEMNE CLINICE ȘI LEZIUNI

Semne clinice

La rațele și gâștele domestice, majoritatea HPAIV au o replicare limitată și produc puține semne clinice. ^{1,6,18} Principala excepție o reprezintă unele HPAIV H5Nx din linia Gs/GD , care pot provoca boli clinice , inclusiv semne neurologice, depresie, anorexie și moarte subită . ^{1,6,11,18}

La pui și curcani, semnele clinice reflectă replicarea virală și deteriorarea mai multor organe viscerale, precum și a sistemelor cardiovascular și nervos. ^{16,18} Cu toate acestea, manifestările clinice la fiecare pasăre variază în funcție de gradul de afectare a organelor și țesuturilor specifice; adică, nu toate semnele clinice sunt prezente în mod egal la toate păsările. La pui și curcani, boala este de obicei fulminantă (curs peracut), iar păsările moarte pot fi găsite fără semne clinice anterioare. Dacă păsările supraviețuiesc 3 până la 7 zile (curs acut, tipic pentru anumite HPAIV și specii precum prepelița, potârnichea și fazanul), unii indivizi pot prezenta tulburări nervoase, cum ar fi tremor la nivelul capului și gâtului, incapacitatea de a sta în picioare, torticolis și opistotonus. ^{4,20} Cotețelele de păsări pot fi neobișnuit de liniștite din cauza scăderii activității și a vocalizărilor. Letargia și o scădere semnificativă a aportului de hrană și apă sunt frecvente. O scădere bruscă a producției de ouă apare la găinile de reproducție și la găinile ouătoare, ceea ce poate duce chiar la încetarea completă a creșterii ouălor în decurs de 6 zile. [1,6 , 18 , 19] Deși semnele respiratorii sunt mai puțin pronunțate decât în cazul LPAI, pot exista zârâit, strănut și tuse.

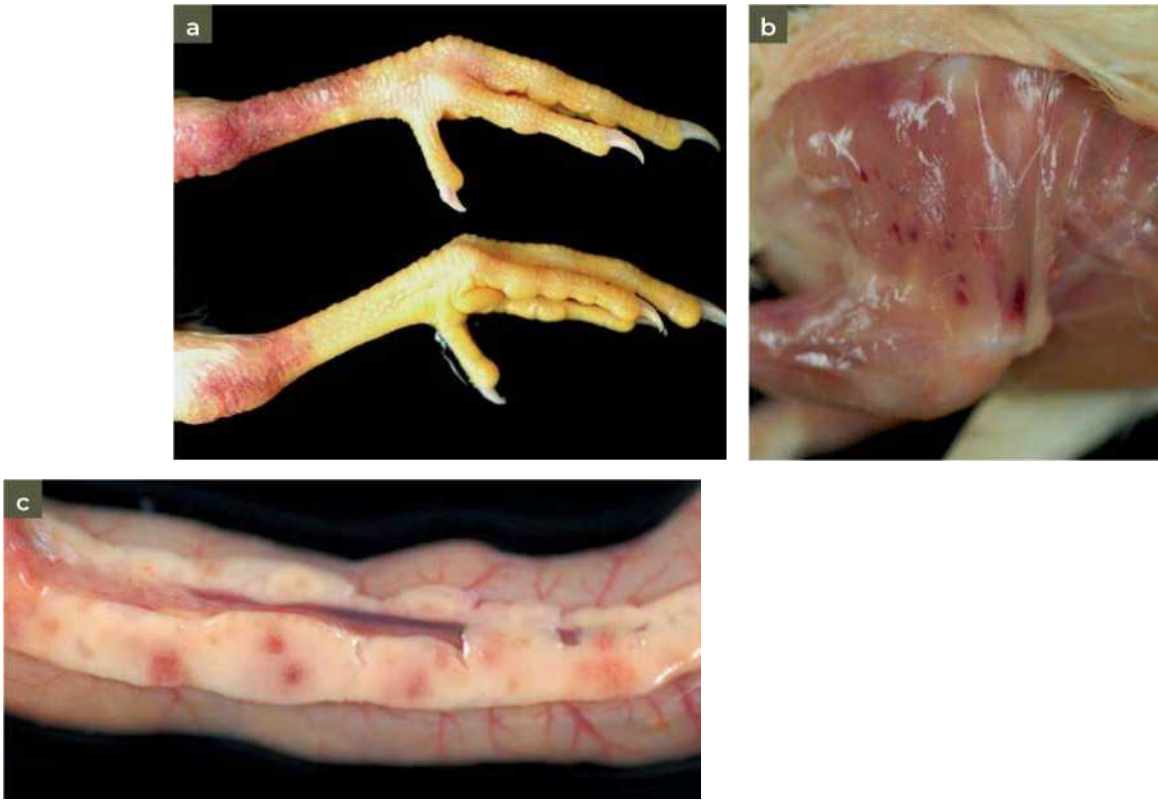
La păsările de curte infectate cu HPAIV, ratele de morbiditate și mortalitate sunt ridicate (50-89%) și pot ajunge la 100% în unele efective .

Timpul mediu până la deces poate varia de la 1 la 10 zile, în funcție de tulpina virală și de specia de pasăre. [1618]

Leziuni macroscopice

Leziunile observate la păsările galinacee infectate cu HPAIV reflectă prezentarea clinică a bolii. ^[1,4,6,18] Astfel, păsările cu boală peracută pot să nu prezinte leziuni severe, în timp ce în boala acută prezintă sinuzită și edem al capului, feței, gâtului superior și picioarelor. Aceste leziuni sunt uneori asociate cu cianoză și hemoragii la nivelul crestei, carunchilor și picioarelor (Fig. 4a), ceea ce este considerat caracteristic infecțiilor cu

HPAIV. Leziunile din organele interne variază în funcție de tulpină, dar includ, în general, hemoragii în grăsimea coronariană și epicardă, mușchii scheletici (Fig. 4b) și seroasa și mucoasa proventriculului și ventriculului. Focarele necrotice vizibile macroscopic sunt de obicei prezente în pancreas (Fig. 4c) și, într-o măsură mai mică , în inimă, rinichi și ficat. Depunerea de urați poate fi observată în rinichi, împreună cu leziuni renale. Plămânii pot prezenta congestie și hemoragie. La păsările tinere, timusul și bursa lui Fabricius pot fi atrofice și hemoragice. În plus, splina poate crește în dimensiuni și poate prezenta focare necrotice palide în parenchim.1,6,18



4. Lesiones macroscópicas en aves infectadas con HPAIV. Hemorragias en patas (a). Hemorragias petequiales en músculo esquelético (b). Focos necróticos en páncreas (c).

Leziuni microscopice

Leziunile microscopice constau în necroză și inflamație în mai multe organe , în special piele, creier, inimă, pancreas, glandele suprarenale , rinichi, ficat, plămâni și organele limfoide primare și secundare.^{116,118} Pe baza semnelor clinice și a leziunilor macroscopice, păsările cu simptome peracute prezintă de obicei o prezență ușoară, dar multifocală, a antigenului viral în celulele endoteliale vasculare și miocitele cardiace prin

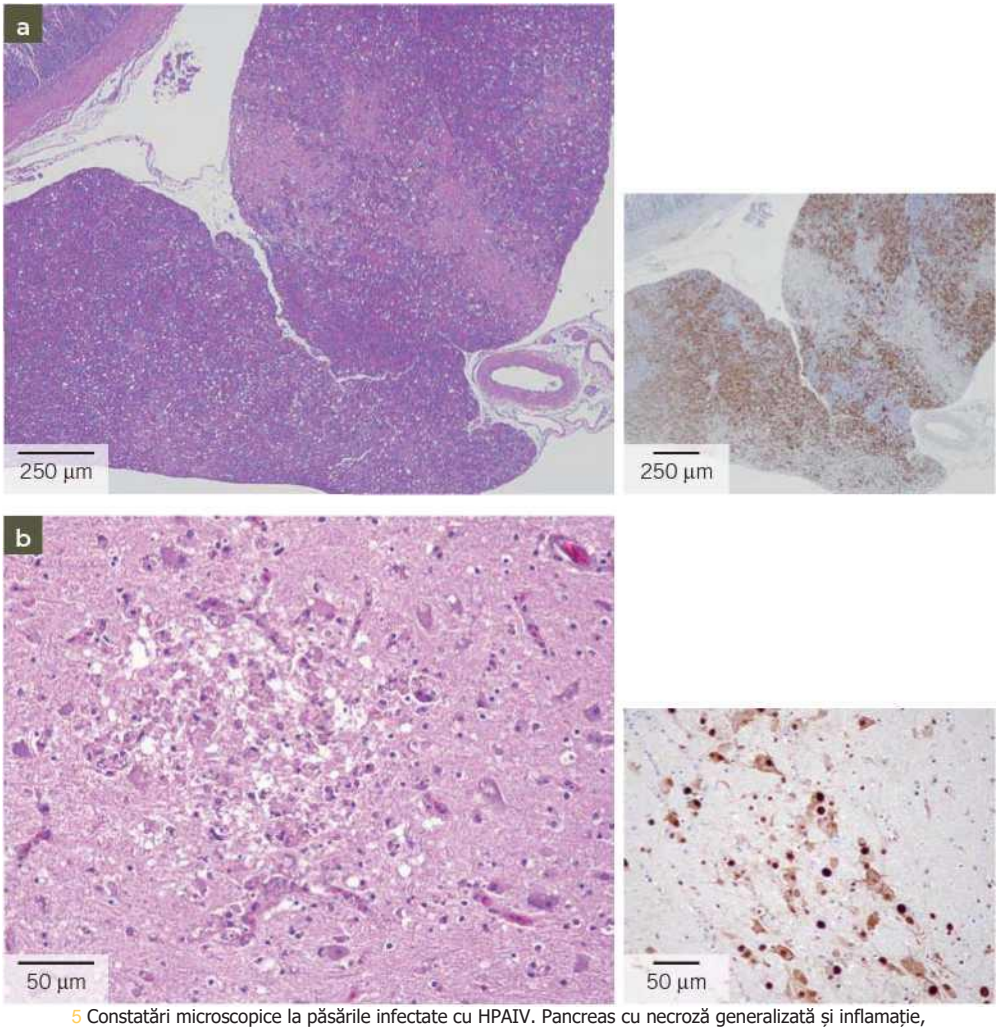
imunohistochimie (IHC), fără leziuni microscopice. În schimb, păsările cu simptome acute pot prezenta necroză și, într-o măsură mai mică, apoptoză cu inflamație, hemoragie și edem asociate, împreună cu prezența antigenului viral (Fig. 5a). În general, cu cât pasărea supraviețuiește mai mult, cu atât necroza și apoptoza devin mai puțin pronunțate , iar inflamația este mai pronunțată. [6] HPAIV, în special cele din linia Gs/GD, au un tropism pentru sistemul nervos central (creier și măduva spinării) și sunt responsabile pentru semnele neurologice observate în cazurile acute severe, cu un prognostic fatal. La aceste păsări, HPAIV provoacă de obicei meningoencefalită limfocitară cu necroză neuronală, neurofagie și glioză focală, ocazional cu edem și hemoragie (Fig. 5b) [.16118]

DIAGNOSTIC

Tabloul clinic și leziunile nu sunt suficiente pentru un diagnostic definitiv al gripei aviare (IA). Diagnosticul și supravegherea se bazează pe detectarea virusului sau a anticorpilor specifici (Tabelul 1). Se pot efectua caracterizari suplimentare pentru a defini subtipul sau alte caracteristici biologice ale virusului. Testele utilizate vor varia în funcție de specie, obiectivele de diagnostic și resursele disponibile. [121]

Dosar medical

consumului de hrană și apă și o scădere a producției de ouă cu peste 5%. În schimb, HPAI se manifestă brusc, adesea cu o mortalitate foarte ridicată, iar păsările afectate prezintă capete umflate, creste și bărbie cianotice, letargie , lipsă de poftă de mâncare, diaree și o scădere semnificativă a producției de ouă. Cu toate acestea, semnele clinice și severitatea bolii pot varia considerabil.



5 Constatări microscopice la păsările infectate cu HPAIV. Pancreas cu necroză generalizată și inflamație, hemoragie și edem asociate (hematoxilină/eozină). Detaliu: colorarea antigenului viral în celulele pancreatice acinare și ductale (IHC) (a). Creier cu encefalită limfocitară non-supurativă cu necroză neuronală, neuronofagie și gliază focală (hematoxilină/eozină). Detaliu: colorarea antigenului viral în neuroni și celule gliale (IHC) (b).

Deoarece semnele gripei aviare pot fi subtile și nespecifice, instruirea și experiența crescătorului de păsări, a proprietarului sau a persoanei responsabile de păsări sunt esențiale pentru detectarea timpurie. [21]

<-L°o

1. Caracteristicile principalelor teste de diagnostic pentru virusul gripei aviare (adaptat după Swayne *și colab.,* 2020).

Dovadă	Detectare	Sensibilitate relativă	Specificitate relativă	Cost relativ per eșantion	Timp
Izolarea virală	Virus viabil	Foarte ridicat	Moderat	Ridicat	1-2 săptămâni
ACIA (kituri comerciale)	Proteina AIV	Scăzut	Ridicat	Moderat	15 minute
rRT-PCR	ARN-ul AIV	Foarte ridicat	Foarte ridicat	Moderat	3 ore
AGID	Proteine NP și M	Moderat	Ridicat	Moderat	48 de ore
	Anticorpi împotriva proteinelor NP și M				
ELISA (kituri comerciale)	Anticorpi împotriva virusului gripal A	Ridicat	Moderat	Scăzut	2-3 ore
IH	Identificarea subtipului HA	Moderat-înalt	Moderat-înalt	Moderat-înalt	2 ore
	Anticorpi împotriva unui subtip specific de HA				
Inhibarea NA	Identificarea subtipului NA	Moderat	Moderat-înalt	Moderat	3 ore
	Anticorpi împotriva unui subtip specific de NA				

ACIA: *test imunologic de captare a antigenului* ; rRT-PCR: reacție în lanț a polimerazei cu transcriptază inversă în timp real; AGID: *imunodifuzie pe gel de agar* ; ELISA: *test imunosorbent legat de enzime* ; IH: inhibarea hemaglutinării.

Necropsia și recoltarea probelor

În timpul necropsiei, se pot preleva probe pentru diagnosticul de laborator al gripei aviare (IA). Dacă obiectivul este efectuarea unui test serologic, probele de sânge trebuie prelevate înainte de sacrificare , de preferință în tuburi fără anticoagulant pentru a obține ser. Pentru detectarea virusului, cele mai frecvent utilizate probe sunt tampoanele orofaringiene (sau traheale) și cloacale . Dacă se prelevează țesut, se recomandă prelevarea de țesut din trahee și plămâni pentru diagnosticul gripei aviare laparoscopice (IAA), în timp ce pentru hiperparainfluență (HPAIV) se recomandă prelevarea de țesut din plămâni, creier, inimă, rinichi și splină. Dacă pentru izolarea virală este necesară IA vie, trebuie utilizate medii de transport care asigură viabilitatea virală până la sosirea la laborator. În cazul tehnicilor de biologie moleculară în care nu este necesar un virus viu, se pot trimite tampoane uscate, tampoane umezite cu ser fiziologic sau tampoane pe purtători (tampoane sau carduri) care inactivează virusul pentru a asigura un transport sigur și eficient. În mod ideal , probele trebuie transportate în termen de 24 de ore de la recoltare și la frigider.

Izolarea virală

Deși este standardul de aur pentru diagnosticarea aspergilozei invazive (IA), nu este utilizat în mod curent în laboratoarele de diagnostic, deoarece necesită facilități cu niveluri ridicate de biosecuritate (cel puțin nivelul 3).^[21] În plus, este o tehnică costisitoare și necesită timp pentru a produce un rezultat definitiv , împiedicând diagnosticul rapid atât de necesar pentru controlul bolii . Prin urmare, acest test este de obicei efectuat doar în laboratoare de cercetare și de referință.

Pentru izolarea virală, se utilizează de obicei ouă de găină embrionate SPF (Fig. 6) sau culturi celulare. Odată ce virusul este izolat, se efectuează teste suplimentare pentru a confirma că este vorba de AIV.

6. Inocularea ouălor embrionate SPF pentru izolarea virală.

Detectarea prin metode moleculare

(ACIA) sunt disponibile pentru detectarea antigenului NP conservat al AIV.1 [Aceste] ACIA sunt ideale pentru testarea în fermă, deoarece sunt rapide și portabile, dar au o sensibilitate și specificitate scăzute în comparație cu alte teste și ar trebui utilizate numai pe păsări moarte sau bolnave și nu pentru supraveghere activă.

În schimb, metodele de reacție în lanț a polimerazei cu transcripție inversă (RT-PCR), și în special RT-PCR în timp real (rRT-PCR), sunt utilizate în mod curent pentru diagnosticarea aspergilozei invazive (IA).^[23] rRT-PCR este rapidă, iar sensibilitatea și specificitatea sa sunt comparabile cu izolarea virală, ceea ce a accelerat diagnosticul și controlul pe teren. În general, detectarea inițială a ARN-ului viral

se efectuează folosind rRT-PCR specific pentru proteinele conservate, cum ar fi NP sau M, iar probele pozitive sunt analizate cu teste rRT-PCR specifice pentru H5, H7 sau alte subtipuri HA.^[1] Cu toate acestea, secvențierea directă a AIV devine din ce în ce mai frecventă pentru tipizarea HA și NA.

Serologie: detectarea anticorpilor împotriva AIV

Testele serologice sunt utilizate pentru a demonstra prezența anticorpilor specifici împotriva AIV, care pot fi detectați încă la 5 zile după infecție . Pentru supravegherea și diagnosticul serologic sunt utilizate mai multe tehnici, inclusiv testul de imunodifuzie pe gel de agar *(AGID)*, testul de inhibare a hemaglutinării (HI) și, cel mai utilizat, ELISA (test imunosorbent legat de enzime). Dintre cele trei teste, HI este singurul complet cantitativ. Serologia se efectuează de obicei folosind ser, deși unele metode permit utilizarea plasmei și a gălbenușului de ou.

Pentru detectarea anticorpilor specifici împotriva tuturor virusurilor gripale aviare (AIV), se utilizează metode serologice bazate pe detectarea anticorpilor împotriva antigenelor NP și M, deoarece acestea sunt antigene comune tuturor AIV. Testul AGID și majoritatea kiturilor ELISA comerciale detectează anticorpi specifici de tip A. Sunt disponibile mai multe kituri ELISA comerciale, inclusiv ELISA indirecte specifice pentru pui și curcani și ELISA competitive care pot fi utilizate cu mai multe specii aviare. În general, testele ELISA sunt mai sensibile decât AGID sau imunohistochimia (IH), dar pot produce rezultate fals pozitive; prin urmare, sunt utilizate pentru screening-ul inițial, iar rezultatele pozitive sunt confirmate prin IH, care determină subtipul HA. Tehnicile specifice de IH pot fi utilizate și ca test primar dacă sunt prezente tulpini enzootice cunoscute.

Testele serologice prezintă unele dezavantaje. În primul rând, diferite specii de păsări prezintă variații considerabile în răspunsul imun. În al doilea rând, atât inhibitorii nespecifici din serul multor specii , cât și aglutinarea nespecifică a eritrocitelor de pui (utilizată în testul HI) pot interfera cu specificitatea, așadar se recomandă pretratarea

serurilor.[2 3 4 5 6 7 „21] În cele din urmă , testul de inhibare a NA pentru detectarea anticorpilor specifici ai subtipului Nx se efectuează de obicei numai în laboratoare înalt specializate."

Caracterizarea tulpinilor de AIV izolate

Odată ce un virus aviar acut (VIA) este izolat, acesta poate fi caracterizat genetic și biologic. Datorită optimizării sale, tehnicile de secvențiere sunt din ce în ce mai utilizate ca instrument de diagnostic de rutină. ^{1,21} Secvențierea permite predicția rapidă a patotipului, permițând dezvoltarea unor strategii de control adecvate și a unor studii epidemiologice moleculare valoroase. ^{1,21} Tehnicile IHC și de colorare cu imunofluorescență sunt utilizate pe scară largă pentru studiile de patogeneză, deoarece permit asocierea situsurilor de replicare virală din țesuturile infectate cu constatările histopatologice.^{24,25}

PREVENIRE ȘI CONTROL

Strategiile de control implementate vor varia în funcție de patogenitatea virusului, de speciile de păsări aflate în pericol sau infectate și de resursele financiare disponibile. [126]

Fiind virusuri încapsulate, virusurile aviare aterosclerotice (VIA) sunt relativ instabile în mediu. Solvenții și detergenții organici, precum și căldura (temperaturile de gătire, pasteurizarea), pH-ul extrem, condițiile hipertonice și uscăciunea pot inactiva VIA. În prezența materiei organice, VIA pot fi distruse de substanțele chimice inactivatoare. După îndepărtarea materiei organice, dezinfectanții chimici, cum ar fi fenolii, ionii de amoniu, agenții oxidanți, acizii diluați și hidroxilamina, pot distruge VIA.¹

Controlul prin inteligență artificială include măsuri concepute pentru:

Preveniți introducerea virușilor.

Reduceți probabilitatea de infectare a păsărilor odată ce virusul este introdus în fermă.

Preveniți transmiterea virusului între ferme.

Și, dacă este posibil, eliminarea/eradicarea virusului.

Aceste rezultate sunt obținute prin combinarea a cinci strategii:

3 Biosecuritatea, inclusiv modificări ale modului în care păsările sunt crescute și vândute, gestionarea mișcării, curățarea și dezinfecția.

4 Supraveghere activă și pasivă și servicii de diagnostic asociate.

5 Eliminarea păsărilor infectate, în special prin sacrificare sanitară *(eradicare totală).*

6 Scăderea susceptibilității păsărilor, în principal prin vaccinare.

7 Educație și comunicare a riscurilor.

Vaccinare

Utilizarea vaccinării pentru controlul gripei aviare (IA) a fost întotdeauna controversată, deoarece nu există o formulă simplă pentru a determina dacă și cum ar trebui utilizat un vaccin, iar numeroși factori interferează cu eficacitatea acestuia. Majoritatea focarelor de IA la păsările de curte domestice au fost eradicate prin strategii de gestionare fără vaccinare, dar imunizarea a fost utilizată în unele țări . ^{15,26} Principalul obiectiv al utilizării vaccinurilor, întotdeauna ca o completare a altor măsuri, este de a reduce susceptibilitatea păsărilor la virus și de a reduce cantitatea de virus din mediu. ²⁷

Utilizarea controlată a vaccinurilor în focarele de LPAIV H5 și H7 poate reduce posibilitatea apariției HPAIV.

se depășește capacitatea de ^{a sacrifica și elimina} rapid păsările infectate , vaccinarea este o alternativă viabilă pentru a câștiga timp, deși adesea implică penalități comerciale.28

Au fost dezvoltate mai multe tehnologii eficiente de vaccinare, în principal pentru pui și curcani, împotriva LPAIV și HPAIV. Cea mai utilizată tehnologie de vaccinare la nivel mondial împotriva gripei aviare la păsările de curte sunt vaccinurile cu virusuri întregi inactivate cu adjuvanți, de obicei obținute din tulpini LPAIV de câmp sau generate genetic, urmate de inactivarea chimică și emulsia uleioasă. Vaccinurile inactivate pot fi monovalente (inclusiv tulpinile H5 sau H7) sau bivalente (inclusiv ambele) și pot conține, de asemenea, subtipuri NA. O altă tehnologie utilizată pe teren, deși mai pe scară largă, este...

Vaccinurile cu virusuri vii recombinant sunt limitate și autorizate în mai puține țări. Aceste vaccinuri utilizează virusul variolei aviare (FPV), herpesvirusul curcanilor (HVT) sau virusul bolii Newcastle (NDV) ca vectori pentru genele AIV (în principal HA). Recent, un vaccin cu particule de ARN care conține gena H5 din clada 2.3.4.4 Gs/GD a fost autorizat în Statele Unite și inclus , împreună cu alte vaccinuri, în banca de vaccinuri avicole de urgență a țării.

Diversitatea genetică și antigenică ridicată a AIV circulante reprezintă o provocare pentru menținerea unor tulpini vaccinale adecvate.³⁰ Vaccinurile IA oferă protecție păsărilor în principal prin imunitate umorală sistemică (anticorpi) împotriva proteinei HA, iar această protecție este specifică subtipului HA. În prezent, nu există un vaccin universal care să protejeze împotriva tuturor celor 16 subtipuri de HA, iar dezvoltarea de vaccinuri îmbunătățite care conferă protecție încrucișată este o prioritate de cercetare. Se studiază vaccinuri bazate pe proteine virale conservate (cum ar fi NP, M sau polimerazele) sau pe porțiuni mai puțin variabile de HA. ¹ O altă abordare pentru obținerea de vaccinuri cu spectru larg este tehnologia COBRA (optimizată computațional cu antigen reactiv larg) , care *permite* crearea artificială de gene HA cu epitopi antigenici din mai multe AIV.31 În plus , vaccinurile care stimulează imunitatea celulară și mucozală, care contribuie, de asemenea, la protecție, sunt mai puțin specifice decât imunitatea umorală și ar putea ajuta la extinderea protecției încrucișate. Principalele vaccinuri anti-influenzabilă (IA) pentru utilizare la pui și curcani, atât autorizate, cât și experimentale, și caracteristicile acestora pot fi găsite în Tabelul 2.

La selectarea programului de vaccinare trebuie luate în considerare aspecte practice , cum ar fi specia țintă, numărul de vaccinuri și posibilitatea diferențierii animalelor infectate de cele vaccinate (strategia DIVA: *diferențierea animalelor infectate și a celor vaccinate).* Există diferite strategii care vizează - diferențierea animalelor infectate de cele vaccinate, cum ar fi păsările santinelă, vaccinurile subunitare și vaccinurile NA heterologe, printre altele. 3234 Vaccinarea *prim-boost* este în prezent cea mai eficientă strategie pentru controlul HPAIV: vaccinurile cu vectori virali funcționează cel mai bine ca vaccinarea primară *in ovo* sau de o zi la incubator, în timp ce răspunsul imun este stimulat de un vaccin inactivat la vârsta de 3 săptămâni sau mai mult în fermă. În plus, este necesar să se promoveze tehnologii de vaccinare ușor de actualizat din punct de vedere tehnologic și legal pentru a aplica tulpini vaccinale similare cu tulpinile circulante și a controla eficient și rapid AIV. 28

2. Principalele vaccinuri împotriva gripei aviare pentru utilizare la pui și curcani, atât autorizate, cât și experimentale.

Platformă de vaccinare	Tipul de vaccin	Tipul de imunitate	
Virus inactivat	Virus întreg cu adjuvanți, subunități	Umoral	
Virus viu atenuat	Adaptat la rece, îndepărtarea NS1, comandat din nou	Umoral (sistemic și mucosal) și celular	
Vector viral recombinant	FPV, HVT, NDV	Umoral (sistemic și mucosal) și celular	
Acid nucleic	ADN-ul	Umoral și celular	
	ARN mesager (ARNm)	Umoral	
VLP	Subunități, proteină/peptidă	Umoral și celular	

NS1: *proteină nestructurală* 1; HP: *extrem de patogenă* ;
FPV: *virusul variolei aviare* ; HVT: *herpesvirus al curcanilor* ;
NDV: *virusul bolii Newcastle* ; DIVA: *diferențierea* animalelor infectate și vaccinate; COBRA: antigen reactiv larg optimizat *computațional ;*
VLP: *particule asemănătoare virusului* (particule similare al virusului).

BIBLIOGRAFIE

1. SWAYNE DE , SUAREZ DL, SIMS LD . Gripă. În: SWAYNE DE, BOULIANNE M, LOGUE CM , *et al.* (eds). *Boli ale păsărilor de curte,* EDIȚIA A 14 - A. WILEY-BLACKWELL, 2020 ; p. 210-256.
2. S UAREZ DL . Virusul gripal A. În: S WAYNE DE (ed). *Gripa animală.* a 2-a ed. Ames, IA: Wiley Blackwell, 2016; p. 3-30.
3. KOSIK I, YEWDELL JW. HEMAGLUTININA și neuraminidaza gripală: proteinele yin-yang coevoluează pentru a contracara imunitatea. VIRUSES , 2019; 11(4):346.
4. B ERTRÁN K, D OLZ R, M AJÓ N. Patobiologia infecției cu virusul gripei aviare la speciile minore de galinacee: o analiză. *Avian Pathol,* 2014; 43(1):9-25.

	Avantaje	Dezavantaje	Prototipuri de vaccinuri universale
	Sigur, imunogen cu adjuvant	Administrare costisitoare, neutralizată de imunitatea maternă, protecție specifică tulpinii, dificil de actualizat	-
	Imunogen, protecție încrucișată parțială	Risc de revenire la HP, actualizare dificilă, protecție specifică tulpinii	-
	Sigur, protecție încrucișată conform prospectului, administrare ușoară *(in ovo,* aerosol, apă) alături de alte vaccinuri de rutină, ușor de actualizat, compatibil cu DIVA	Imunitate pe termen scurt, necesită lanț frigorific, neutralizată de imunitatea maternă împotriva vectorului (excepție: HVT *in ovo)*	Corp HA, M2e, NP, PB2, COBRA
	Sigur, imunogen în *scheme de prim-boost,* ușor de actualizat, compatibil cu DIVA	Protecție specifică tulpinii, administrare costisitoare	-
	Sigur, imunogen în *regimul prime-boost,* ușor de îmbunătățit	Protecție specifică tulpinii	-
	regimuri *de prim-boost* , protecție încrucișată în funcție de genă/proteină, ușor de îmbunătățit	Administrare costisitoare, necesită cantități mari pentru a fi imunogen	Corp multivalent, HA, NA, COBRA

5. BOUVIER NM, PALESE P. Biologia virusurilor gripale. *Vaccine, 2008* ; 26 Suppl 4:D49-D53.
6. P ANTIN - JACKWOOD MJ, S WAYNE DE . Patogeneza și patobiologia infecției cu virusul gripei aviare la păsări. *Rev Sci Tech Off Int Epiz,* 2009; 28(1):113-136.
7. LONG JS , MISTRY B, HASLAM SM, BARCLAY WS . Determinanți ai gazdei și virali ai specificității speciilor de virus gripal A. NAT REV *Microbiol,* 2019 ; 17(2):67-81.
8. STALLKNECHT DE, BROWN JD. Infecțiile păsărilor sălbatice și ecologia virusurilor gripale aviare . În: Swayne DE (ed.). *Gripa animală. Ediția a 2-a. Ames,* IA : Wiley Blackwell, 2016; p. 153-176.
9. SIMS LD, WEAVER J, SWAYNE DE . Epidemiologia gripei aviare în sisteme agricole și alte SISTEME antropice. În: SWAYNE DE (ed.). GRIPA *animală.* EDIȚIA a 2-a. Ames, IA: Wiley Blackwell, 2016; p. 302-336.

10. SIMS LD, BROWN IH. Panzoozie multicontinentală a gripei aviare înalt patogene H5 (1996-2015). În: SWAYNE DE (ed.). GRIPA *animală. Ediția a 2-a. Ames, IA: Wiley* BLACKWELL , 2016; p. 202-247 .
11. LEE DH , BERTRÁN K, K WON JH, SWAYNE DE . Evoluția, răspândirea globală și patogenitatea cladei 2.3.4.4 a genei H5Nx din gripa aviară înalt patogenă. *J Vet Sci,* 2017 ; 18(S1):269-280.
12. ANTIGUA KJC, CHOI WS , BAEK YH, SONG MS. APARIȚIA ȘI distribuția decenară a cladei 2.3.4.4 HPAI H5Nx. *Microorganisme, 2019; 7(6)* : 156.
13. SMITH GJ, DONIS RO, ORGANIZAȚIA MONDIALĂ A SĂNĂTĂȚII / ORGANIZAȚIA MONDIALĂ PENTRU SĂNĂTATEA ANIMALELOR / - ORGANIZAȚIA PENTRU ALIMENTAȚIE ȘI AGRICULTURĂ (OMS /OIE/FAO) Grupul de lucru pentru evoluția H5 . ACTUALIZĂRI ALE NOMENCLATURII REZULTATE DIN EVOLUȚIA CLADELOR 2.1.3.2A , 2.2.1 ȘI 2.3.4 ALE VIRUSULUI gripei aviare A(H5) în perioada 2013-2014. *Alte virusuri respiratorii ale gripei,* 2015 ; 9(5):271-276.
14. S WAYNE DE. Natura globală a gripei aviare. În: S WAYNE DE (ed.). *Gripa animală.* Ediția a 2-a. Ames, IA: Wiley Blackwell, 2016; p. 177-201.
15. SWAYNE DE, PAVADE G, HAMILTON K , *și alții.* Evaluarea strategiilor naționale pentru controlul gripei aviare cu patogenitate ridicată și al gripei aviare cu declarare obligatorie cu patogenitate scăzută la păsările de curte, cu accent pe vaccinuri și vaccinare. REV SCI TECH *Off Int Epiz,* 2011; 30(3):839-870.
16. LEE DH , CRIADO MF, SWAYNE DE . Origini patobiologice și istoric evolutiv AL virusurilor gripale aviare înalt patogene. *Cold Spring Harb Perspect Med,* 2020; a038679.
17. P USCH EA, SUAREZ DL. Riscul zoonotic complex al gripei aviare H9N2. VET *Sci,* 2018; 5(4): 82.
18. SPICKLER AR, T RAMPEL DW, R OTH JA . Debutul răspândirii virusului și semnele clinice la puii infectați cu virusuri ALE gripei aviare cu patogenitate ridicată și scăzută. *Avian Pathol,* 2008; 37(6):555-577.
19. BERTRÁN K, S USTA L, MILLER PJ . Virusul gripei aviare și virusul bolii Newcastle. În: HESTER PY (ed.). Inovații în DOMENIUL *ouălor și strategii pentru îmbunătățiri,* ediția I. Little Rock, AR: Oxford Academic Press, 2017; p. 202-247.
20. BERTRÁN K, PANTIN - JACKWOOD MJ, CRIADO MF și *colab. Patobiologie și răspunsuri imune înnăscute ale păsărilor* DE CURTE GALINACEE LA INFECȚIA CU virusul gripei aviare înalt patogen din clada 2.3.4.4A H5Nx. Vet *Res,* 2019; 50(1):89.
21. S PACKMAN E, CATTOLI G, SUAREZ DL . Metode de diagnostic și supraveghere. În: S WAYNE DE (ed.). GRIPA *animală.* Ediția a 2-a. Ames, IA: Wiley Blackwell, 2016; p. 31-44.
22. K ILLIAN ML. Test de hemaglutinare pentru virusul gripal. În: S PACKMAN E (ed.). *Virusul gripal animal. Metode și protocoale,* ediția a 3-a. New York, NY: Springer , 2020; p. 3-10.
23. S. PACKMAN E. Detectarea și cuantificarea virusului gripei aviare prin RT-PCR în timp real. În: S. PACKMAN E (ed.). *Virusul gripei animale. Metode și protocoale,* ediția a 3-a. Springer, 2020; p. 137-148.
24. CARDONA CJ , HALVORSON DA, HALL J , *și alții. Efectuarea de studii* DE PATOGENEZĂ A virusului gripal la speciile aviare. În: Spackman E (ed.). *Virusul gripal animal. Metode și protocoale,* ediția a 3-a. Springer, 2020; p. 195-209.
25. P ANTIN - JACKWOOD MJ. Colorarea imunohistochimică a virusului gripal în țesuturi . În: S PACKMAN E (ed.). *Virusul gripal animal. Metode și protocoale,* ediția a 3-a. Springer, 2020; p. 29-36.
26. SIMS LD, SWAYNE DE . Strategii DE CONTROL AL gripei aviare. În: SWAYNE DE (ed.). GRIPA *animală.* Ediția a 2-a. Ames, IA: Wiley Blackwell, 2016; p. 363-377.
27. S. PACKMAN E., S. WAYNE DE . Vaccinarea păsărilor de curte galinacee împotriva gripei aviare înalt patogene H5N1: Întrebări actuale și noi tehnologii. *Virus Res,* 2013; 178(1):121-132.

28. B ERTRÁN K, B ALZLI C, L EE DH *și alții.* Protecția puilor White Leghorn prin vaccinarea de urgență H5 în SUA împotriva virusului gripal aviar cu patogenitate ridicată din clada 2.3.4.4 H5N2. *Vaccine,* 2017; 35(46):6336-6344.
29. S PACKMAN E, P ANTIN - JACKWOOD MJ. Aspecte practice ale vaccinării păsărilor de curte împotriva virusului gripei aviare. *Vet J,* 2014; 202(3):408-415.
30. RAJÃO DS, PÉREZ DR . Vaccinuri universale și platforme vaccinale pentru protecția împotriva virusurilor gripale la oameni și agricultură. FRONT *Microbiol,* 2018; 9:123.
31. Ross TM , D I N APOLI J, GIEL - M OLONEY M , *et al.* Un antigen H5 proiectat computațional prezintă o acoperire imunologică largă și protejează împotriva tulpinilor aviare în derivă. *Vaccine,* 2019; 37(17):2369-2376.
32. SWAYNE DE , KAPCZYNSKI D. Strategii și provocări pentru obținerea imunității împotriva VIRUSULUI gripei aviare la păsări. *Immunol Rev,* 2008; 225:314-331.
33. SUAREZ DL DIVA pentru virusul gripei aviare. *Avian Dis,* 2012; 56(4 Suppl):836-844.
34. HASAN NH , IGNJATOVIC J , PEASTON A , HEMMATZADEH F. Virusul gripei aviare și strategiile DIVA. *Viral Immunol,* 2016; 29(4):198-211.

3

INTRODUCERE

Boala Newcastle *(* NB) este în prezent, alături de gripa aviară, una dintre bolile aviare care atrag cea mai mare atenție, posibil datorită răspândirii sale rapide în întreaga lume și a ratelor ridicate de mortalitate pe care le provoacă.

(ND) este o boală aviară extrem de contagioasă care afectează atât păsările domestice, cât și pe cele sălbatice. Afectează păsările domestice mai semnificativ datorită - susceptibilității lor ridicate și impactului grav pe care o astfel de epizootie îl poate avea asupra industriei avicole. Are o distribuție la nivel mondial și este enzootică în multe țări.¹

tulpini virulente ale virusului bolii Newcastle (NDV) (vNDV).[2] *Boala* afectează *tractul* respirator , tractul gastrointestinal, sistemul nervos și sistemul reproducător, provocând *o* mortalitate de până la 100% la puii nevaccinați.[1] Tehnicile de diagnostic molecular, cum ar fi RT-PCR, sunt cea mai comună și rapidă metodă de diagnosticare a bolii. Vaccinarea și biosecuritatea sunt esențiale pentru controlul acesteia.

Boala Nazală este o zoonoză minoră care se prezintă de obicei cu conjunctivită și alte semne ușoare.

ETIOLOGIE

Diareea este cauzată de tulpini virulente de paramixovirus aviar serotip 1 (APMV-1), din genul *Orthoavulavirus* (familia *Paramyxoviridae).*[2] Deși infecțiile cu NDV cu *virulență scăzută* (loNDV) nu provoacă ND, acestea pot duce la simptome respiratorii în cazul infecțiilor concomitente sau în condiții de mediu nefavorabile.[1] loNDV-urile se găsesc frecvent la păsările sălbatice sănătoase.[314] Ocazional, aceste loNDV-uri pot evolua în vNDV.[5]

Variațiile mari ale virulenței și semnelor clinice ale virusurilor de la Newcastle (NV) fac necesară definirea cu atenție a ceea ce constituie NV în scopul comerțului internațional, al măsurilor de control și al politicilor. Conform OIE , NV este definită ca o infecție a păsărilor cauzată de APMV-1 sau NDV care îndeplinește unul dintre următoarele criterii de virulență: [67]

Un indice de patogenitate intracerebrală (ICPI) al virusului la puii de o zi *(Gallus gallus) egal sau mai mare de 0,7.*

Prezența mai multor aminoacizi bazici (cel puțin 3 arginine sau lizine) la capătul C-terminal al proteinei F2 și a fenilalaninei la reziduul 117, care este aminoacidul de la capătul N-terminal al proteinei F1.

Totuși, definiția ND conform standardelor de control ale Uniunii Europene (Directiva 92/66/CEE) se bazează exclusiv pe criteriul ca ICPI să fie egal sau mai mare de 0,7.

În 2016, Comitetul Internațional pentru Taxonomia Virusurilor a redenumit oficial NDV în avian avulavirus 1, iar în 2018 în avian orthoavulavirus 1. Acest capitol va utiliza terminologia istorică pentru NDV, care este, de asemenea, în concordanță cu cea utilizată de OIE în Codul Sănătății Animalelor Terestre.6

NDV-urile sunt virusuri ARN monocatenare cu o înveliș lipoproteic care poartă proiecții glicoproteice de suprafață.⁸ Genomul viral codifică șase proteine structurale: nucleocapsida, fosfoproteina, matricea, proteina mare și glicoproteinele de fuziune (F) și hemaglutinin-neuraminidază (HN); și două proteine nestructurale: V și W.⁹51 52 53 54 55

Virusurile din clasa I sunt în principal loNDV-uri de păsări sălbatice, în timp ce virusurile din clasa II au fost inițial împărțite în mai multe genotipuri, cu reprezentare atât a loNDV-urilor, cât și a vNDV-urilor. [14] În prezent, această variație genetică este grupată în linii sau

51Ei bine, toate tulpinile NDV sunt de același serotip (APMV-1), există cu
variații antigenice considerabile între diferite tulpini din cauza derivei
Antigenic. [710111] Teste moleculare pentru studierea și secvențierea genelor-
Mai multe tulpini de NDV demonstrează, de asemenea, această diversitate genetică
(Fig. 1).
APMV-1 poate fi grupat în două grupe principale, clasa I și clasa II. [12]

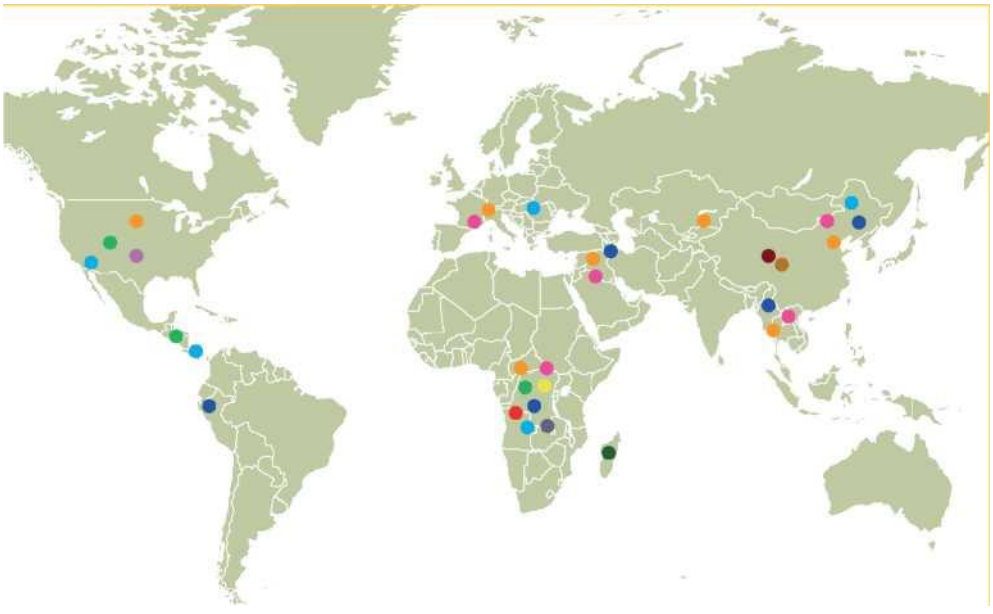
genotipuri, de la I la XIX: [1,13,14,15,16]

Genotipurile I și II includ tulpinile vNDV și loNDV, acestea din urmă fiind adesea utilizate ca vaccinuri.

Virusurile de genotipuri III și IX au apărut în urmă cu zeci de ani, dar acum sunt rareori izolate, în mare parte de la păsările domestice și sălbatice din China.

Virusurile de genotipuri V, VI și VII sunt răspândite pe scară largă și conțin doar vNDV, responsabil pentru cele mai recente focare la păsările domestice și sălbatice de pe diferite continente.

În schimb, vNDV-urile din genotipurile XI (Madagascar), XIII (în principal în Asia de Sud-Vest), XVI (America de Nord) și XIV, XVII și XVIII (Africa) par să aibă o distribuție



geografică mai limitată și au fost izolate predominant de la păsările domestice.

1 Distribuția la nivel mondial a principalelor genotipuri ale virusului bolii Newcastle la păsările sălbatice și domestice (adaptat după Hicks *și colab.,* 2019).

- Genotipo I
- Genotipo VI
- Genotipo III
- Genotipo VII
- Genotipo XI
- Genotipo XIII
- Genotipo XIV
- Genotipo XVI
- Genotipo XVII
- Genotipo XVIII

EPIDEMIOLOGIE

Nematodul diabetic (DN) este o problemă globală. Focarele bolii sunt notificabile la OIE și sunt publicate pentru a preveni răspândirea acesteia în industria avicolă din alte țări. În ultimii cinci ani, 106 din cele 182 de țări membre OIE au raportat cel puțin un caz de [DN.17] Gușa cauzată de Neisseria este deosebit de problematică pentru păsările domestice din țările din Orientul Mijlociu, Africa și Asia (Fig. 2). Situația este deosebit de complexă în țările în care vNDV este enzootic, unde se utilizează încă vaccinuri NDV mezogene vii cu valori ICPI ridicate. În țările în care vNDV nu este enzootic și unde vaccinarea de rutină pentru ND este preventivă, utilizând în general tulpini lentogene cu valori ICPI scăzute, au fost raportate focare sporadice de ND și la păsările domestice.

Tulpinile de NDV pot infecta peste 230 de specii de păsări sălbatice și domestice.^[1] Virusul poate fi izolat ocazional și de la alte animale, cum ar fi porcii și nurcile. ^[18,19] Deși probabil toate speciile de păsări sunt susceptibile la infecția cu NDV, doza infecțioasă necesară și semnele clinice observate depind atât de gazdă, cât și de tulpina specifică de NDV.^[20] Dintre păsările domestice, găinile sunt cele mai susceptibile la NDV, în timp ce rațele și gâștele sunt cele mai puțin susceptibile.

2 Distribuția globală a focarelor de boală Newcastle în ultimii 5 ani (sursa: FAO EMPRES-i).

Focarele de boala Nakamura (NV) la păsările domestice pot apărea prin transmiterea NDV de la speciile de păsări la care virusul este enzootic, cum ar fi cormoranii, rațele, stârcii, pescărușii, lebedele, bibilica și prepelița japoneză. [1121-23] LoNDV-urile sunt enzootice la păsările de apă sălbatice, cum ar fi rațele și gâștele. Nu se știe dacă aceste păsări ar putea fi un rezervor pentru loNDV și ar putea reprezenta o sursă de vNDV emergent.

Transmiterea orizontală a NDV are loc prin răspândirea virusului prin secrețiile

orofaringiene și materiile fecale ale păsărilor infectate cu NDV.²⁴ Păsările se infectează prin ingerarea acestui material, inhalarea prafului contaminat sau expunerea la virus în aerosoli.²⁵ Ingerarea carcaselor contaminate cu NDV provoacă, de asemenea, infecții la păsările de pradă. ²⁶

Odată infectate, păsările elimină virusul atât timp cât persistă semnele clinice . Această perioadă durează 7-9 zile la păsările infectate cu NDV și se încheie cu moartea lor. La păsările vaccinate cu virus viu, eliminarea durează până la 2-3 săptămâni, iar la animalele sălbatice asimptomatice, poate continua pentru perioade lungi de timp. 1127128

Se suspectează transmiterea verticală deoarece unele NDV au tropism pentru oviduct și ovar, iar NDV infectează ușor embrionii.¹ Cu toate acestea , această cale de transmitere este mascată de posibilitatea ca puiul să se infecteze prin fecale contaminate de la mama sa, prin crăpături în coajă sau prin expunerea la un mediu contaminat.^{1,29}

Cazurile zoonotice apar de obicei la lucrătorii din fermele de păsări , prin infecții de laborator sau ca o consecință a infecției cu NDV derivată din vaccin. ⁷³⁰ La om, boala se limitează la conjunctivită sau simptome ușoare asemănătoare gripei, deși poate provoca pneumonie la persoanele imunocompromise.³⁰ Transmiterea de la om la om nu a fost descrisă.

Nu este clar dacă oamenii, alte animale sau insectele pot fi vectori pentru răspândirea NDV.⁷ În schimb, cea mai probabilă răspândire a virusului are loc prin mișcare și contact cu materiale contaminate , cum ar fi echipamentele de lucru, încălțămintea, hrana pentru animale, apa, vaccinurile și alte produse din păsări de curte. ³⁰ Păsările migratoare sau importate ilegal pot fi, de asemenea, o sursă de introducere a NDV.⁷

Trebuie menționat că viabilitatea NDV este foarte ridicată: acestea supraviețuiesc perioade lungi de timp la temperatura camerei și în special în fecale.1,7

SEMNE CLINICE

Perioada de incubație pentru infecția naturală cu NDV variază între 2 și 15 zile, cu o medie de aproximativ 5-6 zile, dar poate dura 3-4 săptămâni în anumite circumstanțe. ^{1,7} Morbiditatea, mortalitatea și semnele clinice observate la păsările infectate variază în funcție de specia gazdă, virulența și doza infecțioasă a virusului, precum și de statutul imunitar și vârsta animalului.

Nici semnele clinice, nici leziunile macroscopice nu sunt patognomonice pentru boala Naan. Semnele clinice sunt uneori dificil de recunoscut și foarte variabile: de la o scădere a consumului de hrană și apă sau a producției de ouă în efectivele aparent sănătoase până la o mortalitate de 100% la puii tineri nevaccinați.³¹ Se pot observa conjunctivită, dispnee, umflare în jurul ochilor, diaree , depresie severă și deces. În stadiile ulterioare ale bolii se pot observa semne neurologice precum torticolis și paralizia aripilor

și picioarelor (Fig. 3). La păsările ouătoare adulte, se observă o scădere a producției de ouă și ouă deformate, cu coji slabe sau lipsite de pigment, în liniile de ouă colorate.

3. Găină cu simptome nervoase (răsucire a gâtului, opistotonus și rigiditate a picioarelor) compatibile cu boala Newcastle.

Pe baza semnelor clinice observate, au fost descrise patru patotipuri la puii inoculați experimental pentru a defini virulența tulpinilor de NDV. Aceste patotipuri sunt, în ordinea descrescătoare a virulenței, (1) velogene, (2) mezogene, (3) lentogene și (4) enteric-asimptomatice: [1, 73032]

NDV-urile velogene pot produce rate ridicate ale mortalității la puii neimunizați de orice vârstă. Acestea sunt împărțite în NDV-uri velogene viscerotrope (vvNDV) și NDV-uri velogene neurotrope (nvNDV). vvNDV-urile provoacă leziuni hemoragice la nivelul tractului gastrointestinal, cianoză, fecale verzi, apoase și adesea semne neurologice, rezultând o mortalitate de 100% în decurs de 3 până la 4 zile. nvNDV-urile produc semne neurologice (excitație, tremor, torticolis și paralizie a unui picior) cu o oarecare implicare respiratorie, rezultând o mortalitate de aproximativ 50% în decurs de 5-10 zile (deoarece, deși sunt alerte, simptomele neurologice îi împiedică să mănânce) .[1]

NDV-urile mezogene sunt mai puțin patogene și produc semne neurologice (tremor, torticolis și paralizie) cu mortalitate doar la păsările tinere.

NDV-urile lentogene cauzează în principal infecții respiratorii, iar la puii SPF provoacă infecții asimptomatice. Aceste NDV-uri lentogene sunt utilizate ca vaccinuri vii la păsările comerciale.

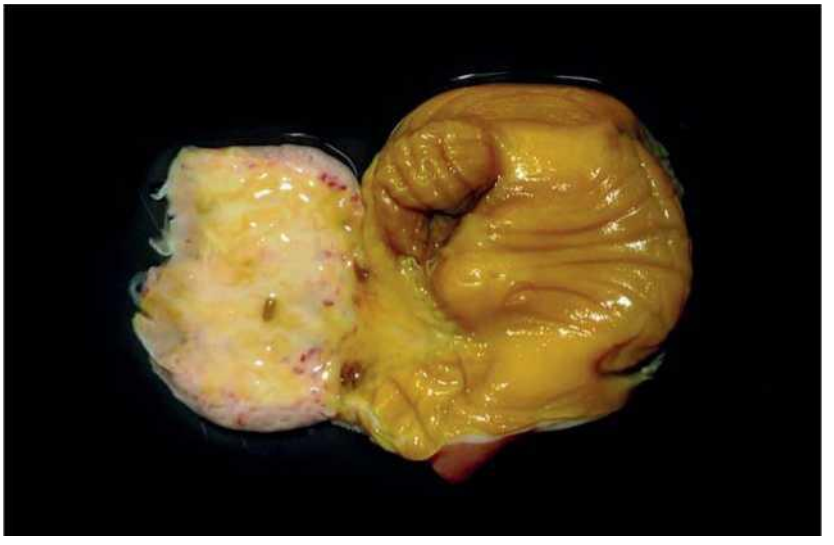
În cele din urmă, **NDV-urile enteric-asimptomatice** au tropism gastrointestinal și nu produc boală clinică, așa că sunt utilizate și ca vaccinuri vii.

ACCIDENTĂRI

Leziuni macroscopice

Leziunile care pot fi întâlnite la puii infectați cu vNDV sunt: [130]

1. Umflarea capului și a zonei periorbitale, cu hemoragie a pielii și crestei și edem interstițial la nivelul gâtului și la intrarea în cavitatea celomică.
2. Congestie și hemoragie la nivelul mucoasei traheale și laringiene, cu exudat fibrinos în trahee, faringe și esofag .
3. Peteșii și echimoze în mucoasa proventriculului (fig. 4).
4. Edeme, hemoragii, necroze sau ulcerații ale mucoasei și țesutului limfoid intestinal — plăci Peyer și amigdale cecale — (leziune indicativă pentru ND) (fig. 5).
5. Edeme, hemoragii sau degenerare ovarelor.
6. Splina mărită, friabilă și roșu închis sau pătată.



4. Prezența peteșiilor în mucoasa proventriculului (zona de graniță dintre proventricul și pipotă).

5. Creșterea dimensiunii și prezența hemoragiilor (peteșiilor) în amigdala cecală.

Doar tulpinile velogene produc leziuni macroscopice relevante. [7]

Păsările care mor brusc și care prezintă în principal semne neurologice, au puține sau deloc leziuni grave. Leziunile intestinale necrotice și hemoragice sunt frecvente la puii

sau curcanii infectați cu vvNDV.33 În schimb, leziunile macroscopice nu se observă în sistemul nervos central al păsărilor infectate cu vNDV și nici măcar cu nvNDV. La găinile ouătoare , se poate observa peritonită la nivelul gălbenușului de ou cu atrofie foliculară și degenerare a oviductului.34

Leziuni microscopice

Unele dintre cele mai frecvente leziuni microscopice la puii și curcanii infectați cu vNDV includ: 1133

1. Necroză cu pierderea limfocitelor în amigdalele cecale, splină, timus, pleoapă și bursa lui Fabricius.
2. Aerosaculită histiocitară sau limfohistiocitară.
3. Glioză cu manșoane perivasculare în măduva spinării, cerebel și trunchi cerebral.
4. Peritonita gălbenușului de ou cu prezența macrofagelor spumoase în subseroasa oviductului.
5. Miocardită necrotică.
6. Necroză a măduvei osoase.
7. Necroză pancreatică, timică sau hepatică.
8. Necroza și ulcerația epiteliului intestinal.
9. Traheită hemoragică ulcerativă.

DIAGNOSTIC

Semnele clinice și leziunile macroscopice sunt indicative (dar nu concludente) pentru boala Nakamura și variază în funcție de tipul de virus NDV care afectează păsările. Un diagnostic provizoriu necesită examinarea mai multor păsări, ideal în stadiile incipiente ale bolii. În unele cazuri, leziunile pot semăna cu cele ale gripei aviare; prin urmare , un diagnostic definitiv necesită identificarea virusului, fie prin izolare și identificare, fie prin metode moleculare.

Detectarea și identificarea virusurilor

Necropsia diabetică (DN) poate fi diagnosticată prin izolarea sau identificarea APMV-1 la păsări vii sau recent decedate. Probele de diagnostic sunt tampoane traheale (sau orofaringiene) și cloacale de la păsări vii, deși se pot folosi fecale proaspete în locul tampoanelor cloacale pentru a evita manipularea păsărilor.¹⁷ Probele de țesut obținute în timpul necropsiei includ de obicei splina, plămânul, intestinele (în special amigdala cecală), conținutul intestinal , ficatul, rinichii, inima și creierul. OIE recomandă, de asemenea, colectarea de tampoane oronazale de la păsări moarte.⁷ În mod ideal, aceste probe ar trebui păstrate într-un mediu antibiotic/antifungic la 4 °C timp de până la 4 zile sau congelate (în mod ideal la -70 °C sau mai puțin).¹³⁸

APMV-1 este în general izolat din ouă embrionate cu vârsta de 9-11 zile de la găini fără anticorpi SPF sau NDV, deși culturile celulare sunt utilizate și pentru unele virusuri APMV-1.⁷ Prezența activității hemaglutinante, determinată prin testul de inhibare a hemaglutinării (HI), în lichidul corioalantoidian al ouălor poate indica prezența APMV-1. Trebuie menționat că, în testul HI, APMV-1 poate reacționa încrucișat cu alte paramixovirusuri aviare, în special APMV-3 și APMV-7.³⁰

Tehnologiile moleculare pentru detectarea NDV au fost analizate de Hoffmann și colab . (2009) [36] și Miller și colab. (2015). [37] Testele moleculare nu numai că permit detectarea NDV, dar și diferențiază tulpinile vaccinale sau loNDV de tulpinile vNDV izolate, conform definiției OIE pentru ND. Tampoanele traheale sau orofaringiene sunt în general probele de elecție, deoarece rezultatele fals negative sunt mai puțin probabile , dar se pot utiliza și țesuturi și scaun. Testele convenționale de reacție în lanț a polimerazei cu transcripție inversă (RT-PCR) sau testele în timp real (rRT-PCR) sunt din ce în ce mai utilizate pentru a identifica APMV-1 în probe clinice sau culturi. Sistemele RT-PCR amplifică de obicei gena *F*. [6] Produsul de amplificare poate fi utilizat pentru genotiparea NDV, fie prin secvențiere genetică, fie prin analiza cu enzime de restricție . Cu toate acestea, sistemele PCR nu detectează neapărat toate tulpinile, inclusiv unele care sunt extrem de virulente, având în vedere variabilitatea regiunii care codifică situsul de clivaj.630

Teste de patogenitate

Patogenitatea unei tulpini APMV-1 izolate poate fi determinată prin mai multe teste diferite. După cum s-a menționat anterior, majoritatea tulpinilor velogene au o secvență particulară: mai mulți aminoacizi bazici la capătul C-terminal al proteinei virale F2 și fenilalanină la reziduul 117 al proteinei F1.¹³⁰ Prezența acestei secvențe genetice este suficientă pentru a clasifica o tulpină izolată drept NDV velogen. ³⁰ Dacă acest model genetic nu este prezent, patogenitatea virusului trebuie determinată la păsările vii. ICPI, care evaluează boala și mortalitatea la puii SPF în vârstă de 1 zi, este în prezent testul standard internațional. ^{1.630,38} Acest test dă valori de la 0,0 la 2,0; cele mai virulente virusuri se apropie de 2,0, în timp ce tulpinile lentogene au în general o valoare apropiată de 0,0. Indicele de patogenitate intravenoasă (IPIV), cuprins între 0,0 și 3,0, poate fi determinat și pentru a evalua virulența la puii SPF în vârstă de 6 săptămâni. Anterior, a fost determinat și timpul mediu până la moartea embrionilor de pui (56 de ore pentru tulpinile velogene, 56-89 de ore pentru tulpinile mezogene și mai mult de 90 de ore pentru virusurile lentogene). ³⁰ Nu există teste standardizate pentru evaluarea virulenței la alte specii decât puii, dar OIE sugerează inocularea experimentală cu o doză standard de virus, administrată pe o cale naturală, cum ar fi inocularea oronazală.⁶

Serologie

Serologia nu este, în general, un instrument util pentru diagnosticarea bolii, deoarece metodele serologice actuale nu pot diferenția anticorpii induși de infecția cu NDV v de cei induși de NDV (loNDV) la păsările sălbatice sau de vaccinare. Cu toate acestea, testele serologice pot fi utile pentru evaluarea eficacității programului de vaccinare. ³⁹

Testele HI și ELISA sunt cele mai frecvent utilizate tehnici, dar pot fi utilizate și alte teste, cum ar fi neutralizarea virală . ^{1,40,47} Rezultatele obținute prin ELISA facilitează interpretarea și compararea cu alte țări sau companii care utilizează acest sistem, deoarece există o uniformitate în modul în care sunt exprimate rezultatele. În schimb, testele HI prezintă uneori o variabilitate semnificativă a rezultatelor datorită varietății de antigeni utilizați, cantității de antigen utilizată și metodei de citire a rezultatelor, printre alți factori.

PREVENIRE ȘI CONTROL

Nu există tratament pentru boala Nastya Newcastle (ND). Controlul acestei boli se realizează în principal prin măsuri de biosecuritate și profilaxie, eliminarea tulpinilor de NDV (prin sacrificarea păsărilor infectate) și imunizarea prin vaccinuri.

Profilaxia și controlul sănătății

Deși obiectivul principal într-un focar de boala Newcastle este de a limita și preveni răspândirea virusului în alte zone, politicile și măsurile de control variază de la o țară la alta, deoarece depind de densitatea păsărilor de curte, de statutul de vaccinare al păsărilor etc. Aceste măsuri de control al bolii Newcastle includ, dar nu se limitează la: [6741]

Proceduri stricte de import și carantină.

Măsuri stricte de biosecuritate.

Izolarea strictă a focarelor.

Distrugerea tuturor păsărilor infectate și expuse în urma unui focar.

Eliminarea corectă a animalelor moarte.

Pauză sanitară de 21 de zile, curățenie și dezinfecție temeinică a spațiilor.

Controlul dăunătorilor și controlul mișcării persoanelor și echipamentelor.

Recomandări pentru controlul bolii de naștere (ND) pot fi găsite pe site-ul OIE (http://www.oie.int) .[38] Pe lângă controlul ND la speciile de păsări domestice, ar trebui abordată și supravegherea virusurilor de noroc (NDV) la speciile de păsări sălbatice din întreaga lume și ar trebui evitat contactul dintre păsările domestice și NDV-urile care circulă în mod natural la păsările sălbatice.42

Pentru programele de igienă și dezinfecție, trebuie menționat că NDV poate fi inactivat la 52 °C timp de 3 ore, la 56 °C timp de 30 de minute , la pH acid și cu dezinfectanți oxidanți (hipoclorit de sodiu sau compuși peroxigeni), alcali (hidroxid de sodiu) și acizi (glutaraldehidă, formaldehidă, formaldehidă gazoasă) .[1,7]

Vaccinare

Vaccinarea permite controlul morbidității și mortalității cauzate de boala Nakamura, dar nu și al infecției cu virusul Nakamura. Se efectuează folosind vaccinuri cu virusuri vii, vaccinuri inactivate și vaccinuri vectorizate sau recombinante (Tabelul 1).

Cele mai frecvent administrate vaccinuri împotriva ND în prezent sunt formulate cu tulpini vii de NDV, cum ar fi Hitchner B1 sau LaSota și, mai recent, cu tulpini Ulster, QV4 și VG/GA (Tabelul 2). ^{1.3035} Vaccinurile bazate pe LaSota sau Hitchner B1 au fost generate din tulpini de NDV izolate în urmă cu 66 de ani și continuă să fie utilizate în întreaga lume. ^{41,44} În absența vaccinurilor cu virusuri vii infectate, este imposibil să se facă distincția între animalele infectate și animalele vaccinate cu vaccin viu.

Vaccinurile împotriva bolii Newcastle (ND) au fost utilizate pentru a controla boala încă din anii 1950. Cu toate acestea, focarele apar încă în fermele de păsări domestice care sunt supuse programelor de vaccinare, ceea ce duce la considerația că vaccinurile actuale ar putea să nu fie suficient de eficiente în prevenirea bolii. ^{41,43} Mutațiile proteinelor antigenice virale F și HN pot ajuta NDV să evite controlul vaccinării. În general, vaccinul ND este mai puternic în prevenirea bolii la puii expuși la un genotip omolog decât la un genotip heterolog. ^{45,46,47} Se știe, de asemenea, că puii imunocompromiși nu răspund adecvat la vaccinare și devin o sursă de infecție și boală. ⁴¹

Aplicarea în masă a vaccinurilor vii (în apa de băut sau *prin pulverizare)* Administrarea pe bază de apă necesită mai puțină muncă decât administrarea individuală (oculară sau intranazală), deși procentul de producție de anticorpi protectori este mai mic (50-67% în apă față de 93% pe cale oculară).⁴⁶ Vaccinurile inactivate, utilizate în general la găinile de reproducție și la cele ouătoare, sunt mai scumpe de produs și mai laborioase de administrat (se aplică subcutanat sau intramuscular). Răspunsul imun indus de NDV inactivat este mai puțin afectat de anticorpii materni în comparație cu vaccinurile vii, ceea ce duce la producerea de niveluri ridicate de anticorpi neutralizanți.¹¹ Vaccinurile inactivate sunt în general multivalente cu antigene de la alte virusuri, cum ar fi virusul bolii Gumboro, virusul bronșitei infecțioase sau reovirusul. Sunt disponibile și vaccinuri recombinante care utilizează vectori vii (virusul variolei sau virusul bolii Marek) care exprimă proteina F a NDV; acestea sunt administrate *in ovo* sau la pui de o zi cu imunitate maternă.¹

1. Principalele caracteristici ale vaccinurilor vii, inactivate și recombinante (adaptat după Dimitrov *și colab.,* 2017).

	Viva	Inactivat	Vectorizat
Prezentare și depozitare	Liofilizat Lichid congelat, refrigerat	Refrigerare cu emulsie în suspensie	Congelat, crioconservat (azot lichid)
Adjuvanți	Nu	Da	Nu
Calea de administrare	În vrac *(spray* sau apă potabilă) sau individual (picături pentru ochi sau	Individual (injectat)	*In ovo,* individual (picături pentru ochi, picături subcutanate sau pe aripi) sau en masse (*spray*)
Durata imunității	Scurt	Lung	Lung
Răspunsul la vaccin	Sistemic și local	Sistemic	Sistemic și local
Răspuns umoral	IgY, IgM, IgA	IgY, IgM	IgY, IgM, IgA (depinde de vector și de calea de administrare)
Răspunsul celular	Puternic	Slab	Puternic
Efectul anticorpilor materni	Da (depinde de nivelul de anticorpi)	Da (depinde de nivelul de anticorpi)	Da (în funcție de vector, calea de administrare și doza de vaccin, poate depăși anticorpii materni)
Efectul anticorpilor din vaccinările anterioare	Da (în vaccinurile anterioare cu virusuri vii)	Depinde de nivelul anticorpilor	Da (în vaccinurile vii anterioare) și în special cu anticorpi anti-HVT dacă vectorul vaccinal este HVT
Începutul protecției	2-3 săptămâni	3-4 săptămâni	4-5 săptămâni
Semne clinice după vaccinare	Posibil (semne respiratorii slabe)	Nu	Nu

Ig: imunoglobuline; HVT: *herpesvirus de curcan* .

2. Tulpini NDV utilizate pentru generarea vaccinurilor (adaptat după Miller și Koch, 2020). În general, se utilizează tulpini loNDV și rareori tulpini mezogene.

Tulpină de virus	Patotip	Genotip	ICPI
Ulster 2C	Asimptomatic	Yo	0,0
QV4	Asimptomatic	Yo	0,0
VG/GA	Asimptomatic/lentogen	II.	0,0
Hitchner B1	Lentogenic	II.	0,2

LaSota	Lentogenic	II.	0,4
Mukteswar	Mezogenic	IV.	1.4
Roakin	Mezogenic	II.	1,5
Beaudette C.	Mezogenic	II.	1.6

ICPI: indice de patogenitate *intracerebrală* .

Programul de vaccinare variază considerabil de la o țară la alta și depinde de tipul de producție, cantitatea de anticorpi materni prezenți și frecvența și severitatea așteptate a tulpinilor de NDV circulante.^[47] În general, în țările fără sau fără așteptarea unor focare de NDV în fermele comerciale, planurile de vaccinare se limitează de obicei la vaccinarea găinilor de reproducție și a găinilor ouătoare în timpul creșterii și al găinilor trase cu trei doze, combinând vaccinuri vii și inactivate. În unele dintre aceste țări, puii de carne sunt, de asemenea, vaccinați. În țările enzootice sau în cele cu focare de NDV, găinile de reproducție și găinile ouătoare sunt de obicei imunizate cu vaccinuri vii înainte de vârsta de 18-20 de săptămâni și revaccinate în timpul fazei de producție, în timp ce puii sunt, în general, vaccinați cu două doze în primele 3 săptămâni de viață. Puii sănătoși pot fi vaccinați încă din ziua 1-4 de viață, dar amânarea vaccinării până în a doua sau a treia săptămână îi crește eficacitatea . În prezența NDV extrem de virulent, vaccinarea simultană cu vaccinuri vii și inactivate este o practică obișnuită care induce producerea de anticorpi locali (imunoglobulină A) și sistemici (imunoglobulină Y: echivalentă cu imunoglobulina G la mamifere), asigurând niveluri adecvate de imunitate și protecție împotriva [acestor] tulpini.35

BIBLIOGRAFIE

1. M ILLER PU, K OCH G. În: S WAYNE DE, B OULIANNE M, L OGUE CM, *et al.* (eds). *Boala păsărilor de curte,* ed. a XIV-a. Wiley-Blackwell, 2020; p. 112-129.
2. A MARASINGHE GK, B AO Y, B ASLER CF , *et al.* Taxonomia ordinului Mononegavi- rale: actualizare 2017. *Arch Virol,* 2017; 162(8):2493-2504.
3. A. YALA , AJ, D. IMITROV , KM, B. ECKER , CR *și alții.* Prezența virusurilor bolii Newcastle derivate din vaccinuri la păsările sălbatice. *PLoS One,* 2016; 11(9):e0162484.
4. VAN BORM S, RIZOTTO LS, ULLMANN LS și *colab. Secvența completă* A GENOMULUI unei tulpini de virus vaccinal al bolii Newcastle izolată de la o bufniță (RHINOPTYNX *clamator). Genome Announc,* 2016; 4(6):e01243-16.
5. WESTBURY H. Virusul bolii de Newcastle: un agent patogen în evoluție? Avian *Pathol,* 2001; 30(1):5-11.
6. ORGANIZAȚIA MONDIALĂ PENTRU SĂNĂTATEA ANIMALELOR (OIE). Capitolul 3.3.14. Boala Newcastle (infecția cu virusul bolii Newcastle). *Manualul Terestru* al OIE , *2018* ; P . 1-22 .
7. O RGANIZACIÓN M UNDIAL DE S ANIDAD A NIMAL (OIE). boala Newcastle. Carduri tehnice ale bolilor OIE . aprilie 2013.
8. CHAMBERS P, SAMSON AC. Proteine nestructurale în celulele infectate cu virusul bolii Newcastle. J *Gen Virol, 1982;* 58 :1-12.
9. LAMB R , PARKS GD . Paramyxoviridae: virusurile și replicarea lor. În: FIELDS B , KNIPE DM, HOWLEY PM (EDS).

Fields Virology, Vol. 1. Philadelphia, PA: Lippincott Williams și Wilkins, 2007; p. 1449-1496.

10. Lana DP , Snyder DB, King DJ, Marquardt WW. Caracterizarea unei baterii de anticorpi monoclonali pentru diferențierea virusului bolii Newcastle și a tulpinilor de paramixovirus-1 al porumbelului. Avian Dis , *1988; 32(2)* : 273-281.
11. Miller PJ, Estevez C, YuQ , și *alții.* Comparație a eliminării virale după vaccinare cu vaccinuri inactivate și vii împotriva bolii Newcastle , formulate cu virusuri de tip sălbatic și recombinante. *Avian Dis,* 2009; 53(1):39-49.
12. C zegledi A, U jvari D, S omogyi E, *et al.* A treia categorie de dimensiune a genomului paramixovirusului aviar serotip 1 (virusul bolii Newcastle) și implicații evolutive . *Virus Res,* 2006; 120(1-2):36-48.
13. Hicks JT, D imitrov KM, A fonso CL și *colab.* Analiza filodinamică globală a paramixovirusului aviar-1 oferă dovezi ale transmiterii inter-gazdă și ale difuziei spațiale intercontinentale . BMC *Evol Biol,* 2019; 19(1):108.
14. D imitrov KM, R amey AM, Q ui X, *et al.* Distribuția temporală, geografică și gazdă a paramixovirusului aviar 1 (virusul bolii Newcastle). *Infect Genet Evol,* 2016; 39:22-34.
15. Aldous EW, Mynn UK, Banks J, Alexander DJ. Un studiu epidemiologic molecular al izolatelor de paramixovirus aviar tip 1 (virusul bolii Newcastle) prin analiza filogenetică a unei secvențe parțiale de nucleotide a genei proteinei de fuziune. Avian *Pathol,* 2003; 32(3):239-256.
16. Diel DG, da S ilva LH, L iu H, *et al.* Diversitatea genetică a paramixovirusului aviar de tip 1: propunere pentru o nomenclatură unificată și un sistem de clasificare a genotipurilor virusului bolii New Castle . *Infect Genet Evol,* 2012; 12(8):1770-1779.
17. Organizația Mondială pentru Sănătatea Animalelor (OIE). Baza de date a Sistemului Mondial de Informații privind Sănătatea Animalelor (Interfața WAHIS). https://www.oie.int/wahis_2/public/wahid.php/Diseaseinformation/Diseasetimelines
18. Chen S , H ao H, Wang X *și colab.* Caracterizarea genomică a unei tulpini lentogene HX01 a virusului bolii Newcastle, izolată de la porci bolnavi din China. Virus *Genes* , 2013; 46(2):264-270.
19. K aleta EF, B aldauf C. Boala Newcastle la păsările libere și la păsările de companie. În : Alexander DJ (ed .). *Boala Newcastle.* Boston, MA: Springer US, 1988; p. 197-246.
20. K apczynski DR, A fonso CL, Miller PJ . Răspunsuri imune ale păsărilor de curte la virusul bolii Newcastle. *Dev Comp Immunol,* 2013; 41(3):447-453.
21. R ue CA, S usta L, Brown CC , *et al.* Schimbări evolutive care afectează identificarea rapidă a virusurilor bolii Newcastle din 2008 izolate de la cormorani cu creastă dublă . *J Clin Microbiol,* 2010; 48(7):2440-2448.
22. Solomon P, Bisschop S , John TM și alții . Analiza filogenetică a virusurilor bolii Newcastle izolate de la bibilici asimptomatice (*Numida meleagris)* și rațe muscovy *(Cariana moscata)* în Nigeria. *Trop Face Health Prod,* 2013; 45(1):53-57.
23. Wajid A, D imitrov KM, W asim M *și colab.* Izolare repetată a virusurilor virulente ale bolii Newcastle la păsările de curte și la speciile aviare captive, altele decât păsările de curte, din Pakistan, din 2011 până în 2016. Prev *Vet Med,* 2017; 142:1-6.
24. A. fonso CL, Miller PJ . Virusul bolii de Newcastle. În: Liu D (ed .). *Manual de microbi și toxine sensibile la securitate.* Boca Raton, FL: CRC Press, 2014; p. 689-698.

25. L i X, Chai T, Wang Z *și colab. Apariția și* transmiterea aerosolului virusului bolii Newcastle provenit de la pui infectați în condiții experimentale . *Vet Microbiol, 2009; 136(3-4)* : 226-232.

26. Schettler E, Fickel J, Hotzel H, *și alții.* Virusul bolii de Newcastle și Chla *mydia psittaci* la răpitoarele libere din estul Germaniei. J *Wildl Dis,* 2003 ; 39(1):57-63.

27. Westbury HA, Parsons G, Allan WH . Durata excreției virusului virulent al bolii Newcastle în urma expunerii la găini cu diferite titruri de anticorpi serici împotriva virusului. *Aust Vet J,* 1984; 61(2):44-46.

28. Park JK , Lee DH , Y uk SS *și colab.* Vaccinul cu particule asemănătoare virusului conferă protecție împotriva unei infecții letale cu virusul bolii Newcastle la pui și permite o strategie de diferențiere a animalelor infectate de cele vaccinate. *Clin Vaccine Immunol,* 2014; 21(3):360-365.

29. Sá e Silva M , S usta L, Moresco K, S wayne DE . Vaccinarea puilor a redus contaminarea ouălor cu virusul bolii Newcastle. Avian *Pathol,* 2016; 45(1):38-45.

30. S pickler AR. 2016. *Boala Newcastle.* Accesat de la http://www.cfsph.iastate.edu/DiseaseInfo/factsheets.php .

31. Aiello SE, Moses MA (eds). Boala Newcastle și alte infecții cu paramixovirus . În: *Manualul Veterinar Merck, ediția a 11-a. Kenilworth, NJ: Merck and* Co. , Inc., 2014; p. 2856-2858.

32. Beard CW, Hanson RP. Boala Newcastle. În: Hofstad MS, Barnes HJ , Calnek BW și colab . (eds). *Boli ale păsărilor de curte,* ediția a 8-a. Ames, Iowa, SUA: Iowa State University Press, 1981; p. 452-470.

33. Cattoli G, Susta L, Terregino C, Brown C. Boala Newcastle: o trecere în revistă a recunoașterii pe teren și a metodelor actuale de detectare în laborator. J Vet *Diagn Invest, 2011; 23(4*) : 637-656.

34. B wala DG, C lift S, D uncan NM *și alții.* Determinarea distribuției vaccinului lentogenic și a antigenului virulent al virusului bolii Newcastle în oviductul găinilor SPF și comerciale utilizând imunohistochimia. *Res Vet Sci,* 2012; 93(1):520-528.

35. V illegas P. Control de la enfermedad de Newcastle. Patología & Sa lud Animal, 15 enero 2020. aviNews. https://avicultura.info/ control-de-la-enfermedad-de-newcastle/

36. H offmann B, B eer M, Reid SM și *alții.* O trecere în revistă a tehnologiilor RT-PCR utilizate în virologia veterinară și controlul bolilor: diagnostic sensibil și specific a cinci boli ale animalelor notificabile la Organizația Mondială pentru Sănătatea Animalelor. *Vet Microbiol* , 2009; 139(1-2):1-23.

37. Miller PU, Dimitrov KM, Williams - Coplin D , *și alții. Programele* internaționale de implicare biologică facilitează studiile epidemiologice privind boala Newcastle. Front *Public Health, 2015* ; 3:235.

38. Comisia pentru Standarde Biologice a OIE . *Manual de teste de diagnostic și vaccinuri pentru animale terestre: mamifere, păsări și albine,* ediția a 7 -a , 2012; vol. 1, partea a 2-a .

39. T hayer SG, Beard CW. Proceduri serologice. În: D ufour -Z avala L (ed.). Manual *de laborator pentru identificarea și caracterizarea agenților patogeni aviari,* ediția a 5-a. Jacksonville, FL: Asociația Americană a Patologilor Aviari, 2008; p. 222-229.

40. T hayer SG, Villegas P, F letcher OJ . Comparație între două teste imunosorbente enzimatice comerciale și metode convenționale de serologie aviară. *Avian Dis,* 1987; 31(1):120-124.

41. D imitrov KM, A fonso CL, Y u Q, Miller PJ . Vaccinurile împotriva bolii Newcastle: o

problemă rezolvată sau o provocare continuă? *Vet Microbiol,* 2017; 206:126-136.

42. D UNDON WG, HEIDARI A, F USARO A , *și alții.* Date genetice despre gripa aviară și paramixovirusurile aviare generate de rețeaua europeană de excelență (EPIZONE) între 2006 și 2011: analiză și recomandări pentru supraveghere . Vet *Microbiol,* 2012;154(3-4):209-221.
43. L iu H, DE A LMEIDA RS, G IL P, *et al.* Poate nepotrivirea genotipurilor să afecteze cu adevărat nivelul de protecție conferit de vaccinurile împotriva bolii Newcastle împotriva tulpinilor virulente heteroloage? *Vaccine,* 2018; 36(27):3917-3925.
44. G OLDHAFT TM. Notă istorică despre originea tulpinii LaSota dacă virusul bolii Newcastle. *Avian Dis,* 1980; 24(2):297-301.
45. MILLER PJ, ESTEVEZ C, YUQ , și *alții.* Comparație a eliminării virale după vaccinare cu vaccinuri inactivate și vii ÎMPOTRIVA BOLII NEWCASTLE , FORMULATE CU VIRUSURI DE tip sălbatic și recombinante. *Avian Dis,* 2009; 53(1):39-49.
46. D EGEFA T, D ADI L, Y AMI A , *și colab.* 2004. Evaluarea tehnică și economică a diferitelor metode de administrare a vaccinului împotriva bolii Newcastle. *J Vet Med A Physiol Pathol Ciin Med,* 2004; 51(7-8):365-369.
47. SENNE DA , KING DJ, KAPCZYNSKI DR . Controlul bolii Newcastle prin vaccinare . DEV *Biol (Basel),* 2004; 119:165-170.

Diagnosticul diferențial al proceselor respiratorii

Bolile respiratorii, alături de bolile digestive, sunt cele mai frecvente procese patologice din fermele de păsări. În general, aceste procese pot fi cauzate de unul sau mai mulți agenți etiologici, iar factorii de mediu precum temperatura, umiditatea, ventilația etc., pot juca adesea un rol foarte important în dezvoltarea bolii.

Diagnosticarea cauzei sau cauzelor unei afecțiuni respiratorii necesită luarea în considerare a istoricului medical, a semnelor clinice și a leziunilor macroscopice observate în timpul autopsiei, deși atât semnele, cât și leziunile sunt adesea nespecifice. Prin urmare, atunci când ne confruntăm cu o afecțiune respiratorie, este important să se efectueze o serie de tehnici de diagnostic care vor ajuta la interpretarea și rezolvarea problemei.

În continuare, și ținând cont de cele discutate mai sus, sunt prezentate tabele cu cele mai frecvente cauze ale afecțiunilor respiratorii la păsările de diferite vârste, cu procese care afectează căile respiratorii superioare sau inferioare și cele mai utilizate metode de diagnostic în prezent.

AVESHÓVENES (<3 SĂPTĂMÂNI)

Tabelul 1. Procese care implică de obicei tractul respirator superior (rinită, sinuzită, traheită).

Proces	Cauza	Metode de diagnostic				
		Histopatologie	PCR	Genotipare	Izolare	Serologie
Iritația cu formaldehidă	Exces de formaldehidă în incubator	✓				
Iritația cu amoniac	Excesul de amoniac la fermă	✓				
Reacția la vaccin	Vaccinuri (NDV, IBV)		✓	✓		
Bronșită infecțioasă	Virusul bronșitei infecțioase		✓	✓		✓

Tabelul 2. Procese care implică de obicei tractul respirator inferior (pneumonie, aerosaculită) sau infecții sistemice.

Proces	Cauza	Metode de diagnostic				
		Histopatologie	PCR	Genotipare	Izolare	Serologie
Aspergiloză	*Aspergillus fumigatus*	✓			✓	
Boala Newcastle	Virusul bolii de Newcastle		✓	✓		✓
Gripa aviară	Virusul gripei aviare		✓	✓		✓
Colibaciloză	*Escherichia coli*				✓	

PĂSĂRI >3 SĂPTĂMÂNI

Tabelul 3. Procese care implică de obicei tractul respirator superior (rinită, sinuzită, traheită).

Proces	Cauza	Metode de diagnostic				
		Histopatologie	PCR	Genotipare	Izolare	Serologie
Laringotraheită	Virusul laringotraheitei infecțioase aviare	✓	✓	✓		✓
varicelă aviară	Virusul variolei aviare	✓	✓			
Bronșită infecțioasă	Virusul bronșitei infecțioase		✓	✓		✓
Sindromul capului umflat	Pneumovirus aviar		✓	✓		✓
Coriza aviară	*Avibacterium paragallinarum*		✓		✓	

Tabelul 4. Procese care implică de obicei tractul respirator inferior (pneumonie, aerosaculită) sau infecții sistemice.

Proces	Cauza	Metode de diagnostic				
		Histopatologie	PCR	Genotipare	Izolare	Serologie
Micoplasmoză	*Mycoplasma gallisepticum/ Mycoplasma synoviae*		✓	✓		✓
Boala Newcastle	Virusul bolii de Newcastle		✓	✓		✓
Gripa aviară	Virusul gripei aviare		✓	✓		✓
Colibaciloză	*Escherichia coli*				✓	
Ornitobacterioză	*Ornithobacterium rhinotracheale*				✓	
Furie	*Pasteurella multocida*				✓	

5 studii de caz

Studiu de caz 1

PREZENTARE DELAGRANUA

Este o fermă de găini de reproducție intensivă , cu o singură clădire împărțită în 2 încăperi, cu o cameră de depozitare în centru. Cele două încăperi sunt conectate și au aceeași capacitate (fig. 1).

Recensământul fermelor:
12.358 de păsări
(11.210 femei + 1.148 bărbați).

Ferma are un nivel ridicat de biosecuritate și este singura fermă aflată pe o rază de 1 km.

1. Fermă de reproducere intensivă.

EVOLUȚIA CAZULUI: SEMNE ȘI ACCIDENTE

În prima zi, când lotul are 47 de săptămâni, fermierul informează medicul veterinar al companiei că există o creștere a numărului de decese. În aceeași zi, medicul veterinar vizitează ferma și, într-una dintre încăperi, observă:

Creșterea mortalității zilnice: de la 3-4 decese la 20 de decese pe zi.

Depresie la 15-20% dintre animale.

Anorexie severă.

O ușoară scădere a consumului de apă.

Semne respiratorii ușoare: tuse, strănut, crepitături și lăcrimare.

Diaree, cu scaune umede, verzui.

Scăderea producției de ouă cu 10% și pierderea culorii cojii.

S-a efectuat necropsia decedatului, iar leziunile observate au fost:

Rinită, sinuzită și traheită catarală ușoară cu prezența exudatului mucos.

Enterită catarală ușoară în intestinul subțire.

Prezența uraților în uretere.

În a doua zi, procesul se mută în cealaltă cameră, iar numărul victimelor crește la 60. Semnele clinice și leziunile observate sunt aceleași ca în prima zi.

Din a treia zi încolo, mortalitatea scade și animalele încep să se recupereze. Până în a cincea zi, pierderile, semnele clinice și leziunile se diminuează.

Numărul total de animale afectate este de 2.000 (16,2%), iar mortalitatea totală datorată procesului este de 1,1% (133 de pierderi).

DIAGNOSTIC PREZUMTIV COLECȚIE DE MOSTRE

Deoarece semnele clinice și leziunile macroscopice observate nu sunt patognomonice, în prima zi de vizitare a fermei, medicul veterinar trimite probe la un laborator clinic pentru diagnostic diferențial.

Pentru prelevare de probe se aleg 10 animale care prezintă semnele clinice și leziunile caracteristice procesului.

Probele prelevate sunt:

Tamponuri din tractul respirator: sinusuri infraorbitale, cavitate nazală și trahee pentru

tehnici bazate pe biologie moleculară.

Tampoane cloacale pentru tehnici bazate pe biologie moleculară.

Sânge pentru studiu serologic.

De asemenea, au fost prelevate tampoane din ficatul și inima celor patru pacienți decedați pentru studiu microbiologic.

Bețișoarele utilizate pentru tehnicile de biologie moleculară nu conțin ribonucleaze (RNază) și dezoxiribonucleaze (DNază) și sunt protejate de un tub de plastic care facilitează transportul probei după recoltare. Suportul pentru bețișoare este fabricat din plastic, iar capul din poliester. Nu conțin mediu de transport pentru a evita interferența cu tehnicile și sunt umezite cu soluție salină fiziologică înainte de recoltarea probei.

Bețișoarele utilizate pentru colectarea și transportul probelor microbiologice sunt sterile pentru a menține viabilitatea bacteriană. După ce probele de ficat și inimă sunt prelevate, acestea sunt plasate în tuburi de plastic care conțin mediu de transport.

Tuburile utilizate pentru recoltarea sângelui sunt fabricate din polipropilenă fără anticoagulante . După ce proba, de aproximativ 2 ml, a fost prelevată, tubul este închis cu capac și înclinat pentru a facilita drenajul (fig. 2a, 2b și 2c).

Toate probele sunt plasate în saci și într-o cutie de polistiren expandat (polistiren expandat) cu comprese reci și duse la laborator pentru analiză.

Întrucât păsările prezintă în principal simptome respiratorii ușoare, probele sunt analizate folosind tehnici de biologie moleculară și serologie pentru a detecta agentul etiologic al următoarelor boli:

Mycoplasma gallisepticum (MG).

Mycoplasma synoviae (MS).

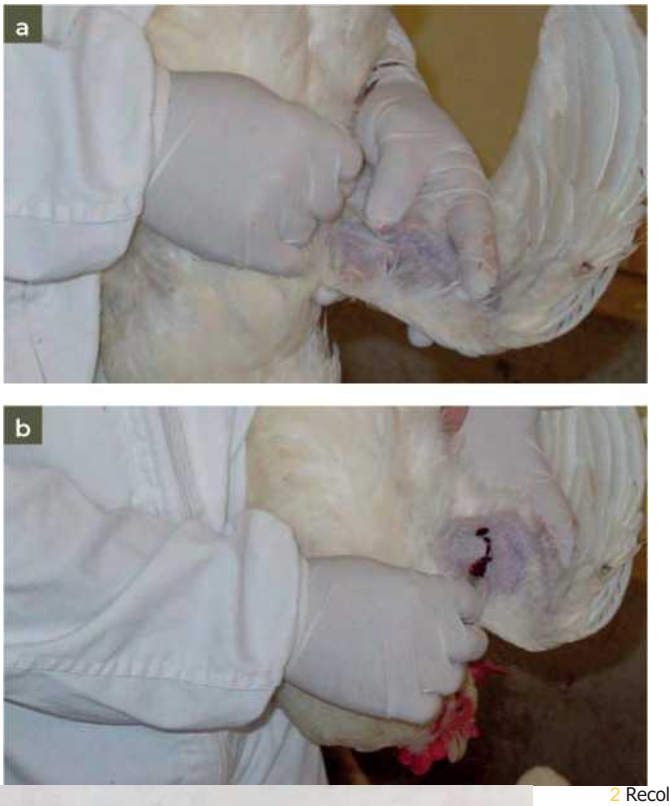
Bronșita infecțioasă (BI).

Boala Newcastle (NB).

Gripa aviară (IA).

Pneumovirus aviar (APV).

În plus, se efectuează un studiu bacteriologic pe probe hepatice și cardiace de la victimele din ziua respectivă.



2 Recoltare de sânge pentru studiu serologic prin puncționarea vaselor de sânge din partea internă a aripii (ayb). Tuburi de polipropilenă fără anticoagulant în poziție orizontală pentru a favoriza drenajul zerului (c).

REZULTATE ȘI INTERPRETARE

În laboratorul de diagnostic, se efectuează diverse analize pentru a determina cauza procesului. Tabelul 1 detaliază rezultatele obținute cu tehnici bazate pe biologie moleculară: reacția în lanț a polimerazei (PCR) pentru detectarea și amplificarea ADN-ului și PCR cu transcripție inversă (RT-PCR) pentru detectarea și amplificarea ARN-ului.

Întrucât rezultatele au fost pozitive pentru gripa aviară de tip A, autoritățile veterinare au fost notificate prompt pentru a confirma suspiciunea de focar. Medicii veterinari oficiali s-au deplasat imediat la fermă pentru a colecta probe cloacale și traheale de la 20 de animale. Probele au fost apoi duse personal la laboratorul național de referință (LNR) pentru confirmare.

Pentru a limita potențialul focar, în aceeași zi, medicii veterinari oficiali au imobilizat ferma în așteptarea rezultatelor testului LNR.

LNR confirmă suspiciunea și determină subtipul virusului AI (HxNx) implicat în focar (Tabelul 2).

1. Rezultate obținute cu tehnici bazate pe biologie moleculară.

Test efectuat:	Tampoane din tractul respirator	, Tampoane cloacale
PCR MG	Negativ	Nu este analizat
PCR MS	Negativ	Nu este analizat
RT-PCR IB	Negativ	Negativ
RT-PCR ND	Negativ	Negativ
RT-PCR AI tip A	Pozitiv	Pozitiv
RT-PCR APV	Negativ	Nu este analizat

2. Rezultate obținute în laboratorul național de referință utilizând tehnici bazate pe biologie moleculară.

Tehnici	Tampoane pentru tractul respirator	Tampoane cloacale
RT-PCR AI tip A	Pozitiv	Pozitiv
RT-PCR AI H5	Negativ	Negativ
RT-PCR AI H7	Pozitiv	Pozitiv
RT-PCR N1	Pozitiv	Pozitiv

După confirmarea faptului că virusul implicat este H7N1, patogenitatea sa este determinată prin secvențierea situsului de clivaj al hemaglutininei. Este un virus H7N1 cu patogenitate scăzută.

Odată ce focarul este confirmat de LNR, animalele sunt sacrificate rapid *la fața locului.* Păsările din ferma afectată sunt deja procesate la o instalație autorizată de prelucrare a subproduselor de origine animală nedestinate consumului uman (ABP) . De asemenea, toate ouăle de incubație produse în ultimele 21 de zile, inclusiv cele aflate deja în camera de incubație, sunt eliminate.

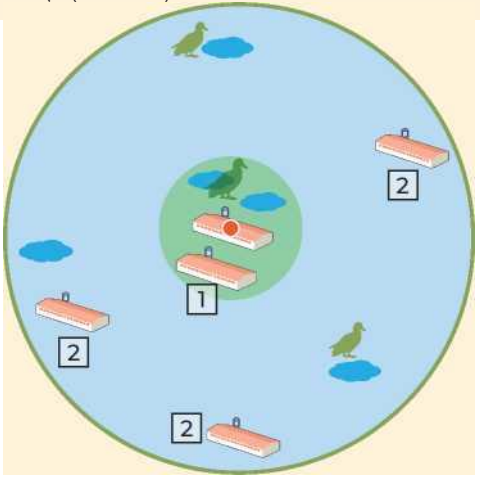
De asemenea, au fost prelevate probe de la ferma avicolă situată în zona de protecție (rază de 3 km), precum și de la cele 3 ferme avicole situate în zona de supraveghere (rază de 3 până la 10 km). Toate au avut rezultate negative (Fig. 3).

În ceea ce privește studiul bacteriologic al probelor de ficat și inimă, *s-a detectat Escherichia coli.*

Tabelul 3 prezintă rezultatele obținute în studiul serologic.

Serurile analizate au prezentat titruri ridicate pentru testele ELISA IH IB (M-41), IH ND și APV, în concordanță cu titrurile vaccinului. Testele ELISA MG și MS au fost negative. În ceea ce privește testele ELISA AI tip A, deoarece proba a fost prelevată la începutul procesului, seroconversia nu avusese încă loc la majoritatea păsărilor, motiv pentru care multe seruri au fost negative.

Zonă de protecție (rază: 3 km)



Zonă de supraveghere (rază: 3-10 km)

• Concentrare

pT| Ferme pe o rază de 3 km |T| Ferme pe o rază de 3-10 km

3. Ferme situate în razele de protecție (3 km) și supraveghere (3-10 km).

3. Rezultate obținute prin studiul serologic.

Analiză	Tehnică	Rezultat
MG	ELISA	10 probe de ser negative
DOMNIȘOARĂ	ELISA	10 probe de ser negative
IB (M-41)	IH	10 probe de ser pozitive

ND	IH	10 probe de ser pozitive
IA tip A	ELISA	2 probe de ser pozitive 1 ser suspectat 7 seruri negative
APV	ELISA	10 probe de ser pozitive

MĂSURI DE CONTROL SĂNĂTĂȚIC ADOPTATE ÎN FERMA AFECTATĂ

În conformitate cu legislația în vigoare, au fost adoptate următoarele măsuri pentru a controla focarul de IA:

Imobilizarea imediată a fermei afectate din momentul suspectării apariției focarului, precum și a fermei situate pe o rază de 3 km.

Inspecție clinică și prelevare de probe la ferma afectată și la singura fermă avicolă situată pe o rază de 3 km.

Inspecția clinică și prelevarea de probe a fermelor avicole situate pe o rază de 3 până la 10 km.

Studiu epidemiologic pentru a determina posibila origine a focarului și fermele expuse riscului: mișcările de păsări vii, ouă și vehicule, precum și monitorizarea fermelor care au intrat în contact cu aceste vehicule.

Sacrificarea *la fața locului* a tuturor păsărilor din ferma afectată și distrugerea a 150.000 de ouă pentru incubație, carcase și alte materiale care ar putea transmite virusul.

Supraveghere sporită a păsărilor sălbatice și interdicția eliberării păsărilor în scopuri de vânătoare în zonă.

Curățarea și dezinfecția fermei afectate.

CAUZE POSIBILE ȘI ACȚIUNI CORECTIVE

Odată ce focarul IA a fost rezolvat, se efectuează un studiu epidemiologic pentru a identifica posibilele cauze și astfel a putea aplica acțiunile corective relevante.

Deși ferma are un nivel ridicat de biosecuritate, aceasta este situată într-o zonă cu o populație semnificativă de păsări acvatice, datorită numeroaselor iazuri de irigații. Întrucât apa de băut a animalelor provine dintr-unul dintre aceste iazuri, se crede că apa de băut ar putea fi punctul de intrare pentru virus.

Deși până în prezent s-a verificat corectitudinea procesului de purificare a apei , controalele sunt intensificate pentru a se asigura că tratamentul este efectuat corect și, prin urmare, inactivează virusul IA și alți agenți patogeni.

Studiu de caz 2

PREZENTARE FERMĂ

Este o fermă de pui de carne cu o singură clădire, situată într-o zonă cu o densitate mare de ferme avicole.

Recensământul fermei: 30.000 de pui.

Facilitățile sunt moderne, cu ventilație forțată (fig. 1).

Găinile sunt vaccinate în incubator împotriva bolii Gumboro cu o tulpină intermediară *in ovo,* împotriva bolii Marek cu HVT *in ovo* și împotriva bronșitei infecțioase cu tulpina H120 prin *pulverizare.*

1. Creșterea găinilor.

EVOLUȚIA CAZULUI: SEMNE ȘI ACCIDENTE

Pe 18 ianuarie, când lotul avea 29 de zile, fermierul a informat medicul veterinar despre o creștere a numărului de decese. În aceeași zi, medicul veterinar a vizitat ferma și a observat:

Creșterea mortalității zilnice la 310 decese.

Depresie la 60% dintre animale.

Reducerea consumului de furaje și apă.

Semne respiratorii: tuse, strănut, crepitături și lăcrimare.

S-a efectuat necropsia decedatului, iar leziunile observate au fost:

Rinită, sinuzită și traheită catarală ușoară cu prezența exudatului mucos.

În majoritatea cazurilor, se observă aerosaculită fibrinoasă cu turbiditatea sacilor aerieni, iar în unele cazuri, poliserozită fibrinoasă cu exudație de fibrină în membranele seroase ale cavității celomale (Fig. 2).

Nefrită cu creșterea dimensiunii rinichilor și acumularea de urați în rinichi și uretere.

2 Poliserozită fibrinoasă cu exudație de fibrină în membranele seroase ale cavității celomale.

Deoarece unele animale prezintă leziuni macroscopice compatibile cu o infecție bacteriană, medicul veterinar, în așteptarea rezultatelor antibiogramei, decide să efectueze tratamentul. Alegerea antimicrobianului se bazează pe testele de sensibilitate la antimicrobiene efectuate în unitate.

În a doua zi, numărul victimelor a fost aproximativ același. Semnele și rănile observate au fost aceleași ca în prima zi.

Procesul durează 6 zile.

Numărul total de animale afectate este de 80%, iar rata mortalității datorată procesului este de 6,2%.

DIAGNOSTIC PREZUMTIV COLECȚIE DE MOSTRE

Deoarece semnele clinice și leziunile macroscopice observate nu sunt patognomonice, în prima zi de vizitare a fermei, medicul veterinar trimite probe la un laborator clinic pentru diagnostic diferențial.

Pentru prelevare de probe se aleg 5 animale care prezintă semnele clinice și leziunile caracteristice procesului.

Probele prelevate sunt:

Tampoane din tractul respirator (5 animale): sinusuri infraorbitale, cavitate nazală și trahee pentru tehnici bazate pe biologie moleculară.

Tampoane cloacale (5 animale) pentru tehnici bazate pe biologie moleculară. Sânge pentru un studiu serologic (10 animale).

De asemenea, se prelevează tamponuri de măduvă osoasă de la persoane decedate pentru studii microbiologice.

Toate probele sunt plasate în saci și într-o cutie de polistiren expandat (polistiren expandat) cu comprese reci și duse la laborator pentru analiză.

Întrucât păsările prezintă în principal semne respiratorii, probele sunt analizate folosind tehnici de biologie moleculară și serologică pentru a detecta agentul etiologic al următoarelor boli:

Mycoplasma gallisepticum (MG).

Mycoplasma synoviae (MS).

Bronșita infecțioasă (BI).

Boala Newcastle (NB).

Gripa aviară (IA).

Pneumovirus aviar (APV).

Când se observă poliserozită fibrinoasă, se efectuează un studiu bacteriologic al tamponului de măduvă osoasă.

REZULTATE ȘI INTERPRETARE

În laboratorul de diagnostic se efectuează diverse analize pentru a determina cauza procesului. Tabelul 1 detaliază rezultatele obținute folosind tehnici de biologie moleculară. Bețișoarele sunt analizate în grupuri de câte 5.

1. Rezultate obținute cu tehnici bazate pe biologie moleculară.

Test efectuat:	Tampoane din tractul respirator, Tampoane cloacale	
PCR MG	Negativ	Nu este analizat
PCR MS	Negativ	Nu este analizat
RT-PCR IB	Pozitiv	Pozitiv
RT-PCR ND	Negativ	Negativ
RT-PCR AI tip A	Negativ	Negativ
RT-PCR APV	Negativ	Nu este analizat

Pentru a determina ce tulpină de virus IB a fost detectată, genotiparea se efectuează folosind secvențierea genomică parțială a S1. Genotipul 793/B este detectat atât în tampoane traheale, cât și în cele cloacale.

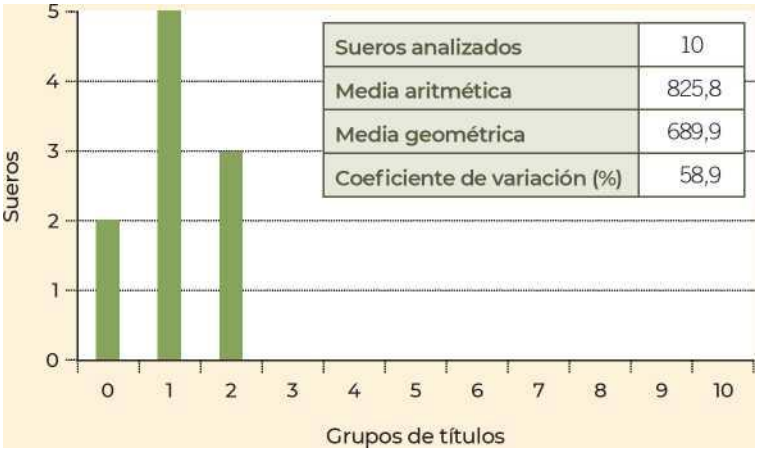
În ceea ce privește studiul bacteriologic al probelor de măduvă osoasă, s-a detectat prezența *Escherichia coli* și s-a efectuat o antibiogramă pentru a determina sensibilitatea microorganismului la medicamentele antimicrobiene disponibile, permise de legislația în vigoare. Antibiograma a confirmat că tulpina detectată era sensibilă la antimicrobianul prescris de medicul veterinar.

Nu s-au detectat anticorpi în serurile analizate de la puii de 29 de zile în testele MG, MS, ND, AI și APV (Tabelul 2). Titrurile medii de IB obținute atât prin tehnici ELISA, cât și prin IH pentru serotipurile M-41, 793/B și QX sunt în concordanță cu titrurile vaccinale (Fig. 3 și 4).

2. Rezultate negative obținute în urma studiului serologic.

Test efectuat	Tehnică	Rezultate
MG	ELISA	10 probe de ser negative
DOMNIȘOARĂ	ELISA	10 probe de ser negative
ND	IH	10 probe de ser negative
IA tip A	ELISA	10 probe de ser negative
APV	ELISA	10 probe de ser negative

3. Test ELISA IB la vârsta de 29 de zile.



4. Inhibarea hemaglutinării (IH) a trei serotipuri de IB la 29 de zile de viață.

IH IB M41 (valoare limită: log 4)												
0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	Media aritmetică
			1	3	5	1						4.6
IH IB 793/B (valoare limită: $\log_2$ 4)												
0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	Media aritmetică
			3	3	4							4.1
IH IB QX (valoare limită: $\log_2$ 4)												
0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	Media aritmetică
			7	2	1							3.4

La vârsta de 44 de zile, se prelevează din nou probe pentru testele serologice RT-PCR și IB.

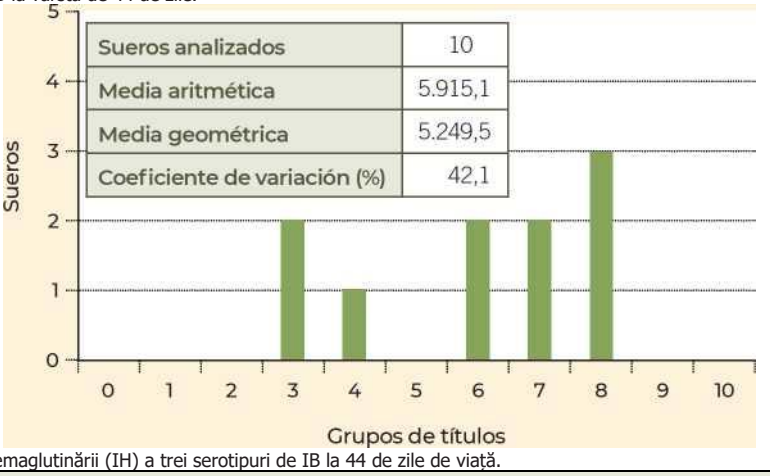
În general, virusurile IBV elimină rapid din tractul respirator, dar persistă mai mult timp în rinichi și intestine. Acesta este motivul pentru care, la vârsta de 44 de zile, virusul IBV este detectabil doar în tamponul cloacal.

În ceea ce privește studiul serologic, după 15 zile de la apariția problemei, s-a observat o creștere semnificativă a titrurilor medii ale testelor ELISA și IH (fig. 5 și 6).

Testele ELISA comerciale nu diferențiază, de obicei, anticorpii împotriva diferitelor serotipuri circulante de IBV. În acest scop, seroneutralizarea ar fi tehnica de referință, dar este foarte costisitoare și nu este de obicei efectuată în scopuri diagnostice.

În cazul tehnicii HI, deși există reactivitate încrucișată între diferitele serotipuri, atunci când există o diferență semnificativă a titrului de cel puțin doi logarithmi, se poate concluziona că serotipul cu cel mai mare titru este cel implicat în proces. În ceea ce privește cazul de față, analiza rezultatelor obținute în HI efectuată cu cele trei serotipuri diferite confirmă faptul că serotipul 793/B al IBV este cauza procesului, deoarece obține un titru mediu de 8,9 și depășește titrurile M41 și QX cu mai mult de doi logarithmi. În plus, puii nu sunt vaccinați împotriva 793/B; prin urmare, anticorpii detectați nu pot fi derivați din vaccin.

5. Test ELISA IB la vârsta de 44 de zile.



6. Inhibarea hemaglutinării (IH) a trei serotipuri de IB la 44 de zile de viață.

IH IB M41 (valoare limită: log 4)												
0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	Media aritmetică
						4	5	1				6.7
IH IB 793/B (valoare limită: log2) 4)												
0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	Media aritmetică
								3	5	2		8.9
IH IB QX (valoare limită: log2 4)												
0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	Media aritmetică
				5	3	1	1					4.8

CAUZE POSIBILE ȘI ACȚIUNI CORECTIVE

După analizarea cazului de IB din fermă și observarea repetatei situații și la alte două ferme de pui, cu aceeași integrare și în care a fost detectat același genotip (793/B), s-a decis revizuirea programului de vaccinare a puilor.

Până în prezent, pentru a proteja puii de IBV, integrarea a vaccinat toți puii din incubatoare cu IBV viu, tulpina H120 (serotipul Massachusetts).

La detectarea genotipului 793/B, compania a decis să lărgească spectrul de protecție prin includerea unuia dintre vaccinurile comerciale împotriva infecțiilor IB care conțin genotipul 793/B. Aplicarea se efectuează împreună cu H120 în incubatoare, folosind *un spray*.

Un alt motiv pentru aplicarea acestei măsuri este că, deși ferma este modernă și are un nivel bun de biosecuritate, aceasta este situată într-o zonă cu multe ferme avicole.

Bolile respiratorii reprezintă una dintre cele mai semnificative probleme de sănătate în producția avicolă la nivel global. Printre patologiile care afectează sistemul respirator al păsărilor, bolile virale sunt cele mai importante datorită mortalității pe care o provoacă, scăderii bunăstării și performanței productive la care duc și capacității lor de a facilita pătrunderea microorganismelor secundare.

Această lucrare prezintă cele mai recente progrese în diagnosticarea și controlul a trei dintre cele mai răspândite boli respiratorii virale care afectează producția avicolă la nivel mondial: bronșita infecțioasă aviară, gripa aviară și boala Newcastle. Scopul său este de a oferi personalului tehnic și veterinar o actualizare a cunoștințelor științifice generate în ultimii ani cu privire la cele mai noi instrumente de diagnostic și progrese în prevenirea și controlul acestora, permițându-le să abordeze eficient aceste boli.

http://store.grupoasis.com

ISBN 978-84-18020-83-4
9 788418 020834
45.00 EUR 1,195.00 MXN 55.99 USD
LIBR1615

SERVET

Editura medicilor veterinari